

홍화씨 추출물 및 우골유도합성골이 성견골 결손부 재생에 미치는 영향

서재진 · 김 탁 · 픽성희 · 윤기연 · 유형근 · 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서론

치주치료의 궁극적인 목적은 치주질환의 진행을 정지시키고, 소실된 치주조직의 재생을 얻는 것이다. 진전된 치주질환에서는 치아를 지지하고 있는 치조골의 파괴가 동반되기 때문에 파괴된 치조골을 재생시키는 방법이 다양하게 시도되고 있다. 이 중 골이식술은 1980년대에 인공이식재의 개발과 함께 술식도 비교적 간단해져 급속히 보급되고 있으며, 또한 많은 이식재가 임상에서 사용되고 있다¹⁻⁵⁾.

Schallhorn은 골이식술의 목적이 치주낭의 제거, 골결손부의 수복, 치주조직기능의 회복이며, 또한 이식재의 조건으로 생체 친화성, 예견 가능성, 임상 적용성, 최소한의 수술 위험성, 짧은 치유기간, 환자의 수용성 등을 갖추어야 한다고 하였다¹⁾. 또한 Levin 등은 이상적인 골이식재의 조건으로 골과 백악질의 형성을 촉진하고, 치근으로의 재부착이 가능해야 하며, 높은 생체 친화성이 있으며, 발암성, 독성, 항원성 등이 없어야 한다고 하였다⁶⁾. 이식재 자체에 대한 고려 외에도 골이식술은 골 결손의 형태, 정도, 잔존 치의 상태, 동요도, 환자의 연령, 협조도 등의 요인을 종합적으로 생각하여 결정하여야 한다.

골이식재는 그 공급원에 따라 자가골, 동종골, 이종골, 합성골로 나눌 수 있으며, 골형성능력에 따라서는 골형성 이식재, 골유도성 이식재, 골전도성 이

식재로 구분한다. 자가골은 Hegesus⁷⁾가 치주질환으로 파괴된 치조골의 재생에 처음 시도한 뒤부터 골 융괴, 골혼합, 골압입, 구강 망상 골수강이식 등의 많은 형태로 적용되어 오고 있으나, 골채취의 어려움, 부가적인 수술의 필요성, 시술 후 합병증, 이식량의 제한, 비용의 증가, 낮은 예견성 등으로 인해 자가골을 대체할 수 있는 이식재가 요구되고 있다⁸⁻¹⁰⁾. 동종골은 비탈회동결건조동종골¹¹⁾, 탈회동결건조동종골^{12,13)} 등이 있고, 이종골은 우골유도골^{14,15)}이 있으며, 합성골은 수산화인회석¹⁶⁾ 등이 있다. 이들 이식재의 사용은 자가골의 단점인 수술부위 이외의 외상을 주지는 않지만, 이물질로 인해 면역반응을 초래하거나, 감염의 위험성이 있다. 이로 인해 항원성을 줄이고 감염의 위험을 없애는 과정을 거쳐야 한다^{17, 18)}. 최근 치주조직의 재생을 위해 우골유도합성골이 많이 사용되고 있다. 이런 이식재는 자가골의 단점인 양의 제한이 없으며, 부가적인 수여부가 필요없다. 또한, 면역반응을 일으킬 수 있는 모든 유기기질을 제거하기 위해 낮은 온도의 화학과정을 거치기 때문에 안정성이 확보되고, 골 본래의 물리적 특성인 골소주와 공동이 유지된다. 칼슘과 인의 비율, 표면면적, 결정의 크기, 다공성 등의 특성 면에서 탈회동결건조 동종골(demineralized freeze-dried bone allografts; DFDBA)과 수산화인회석을 비교하였을 때 우골유도합성골이 인간의 해면골과 보다 더 유사하였다⁹⁾. 치

주영역에서는 우골유도합성골이 치조골증대술, 상악동거상술, 분지부 골결손, 골내낭, 발치와 등에 사용되고 있다. 골결손부가 매우 큰 경우에는 자가골과 혼합하여 사용할 수 있다. 임상에서 사용시 직접골을 형성하는 능력이 미약하고, 대부분 골전도를 통해 골을 재생하기 때문에 입자는 혈관이 잘 발달된 골표면에 직접 접촉해야하며, 피질골과 접촉하는 경우에는 골을 천공시켜야 한다. 이와 같이 대부분 이식재의 가장 큰 문제점은 이식재 자체에 치조골, 치주인대, 백악질 등을 적극적으로 형성 및 유도할 수 있는 능력이 없다는 것이다. 또한, 이런 골이식재를 사용하여 파괴된 치조골이 성공적으로 재생한다고 하더라도 많은 시간이 필요하며, 재생된 치조골이 치아를 지지할 정도의 강한 치밀골로 되는데도 상당한 기간이 소요되므로, 이런 시간을 단축시키고 예견성있는 골재생을 위해 골이식재에 첨가하거나, 직접 골형성을 유도할 수 있는 물질이 연구되고있다. 그 대표적인 물질로 성장인자가 있다. 이 중 BMP²⁰⁾, PDGF²¹⁾, IGF²²⁾, βFGF²³⁾ 그리고 TGF²⁴⁾ 등은 골형성을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, 치조골결손부에 적절량, 적절한 기간, 적절한 시기에 국소투여 한다면 치주조직 재생의 과정을 촉진하는 데 이용될 수 있다. BMP는 골기질에 주로 존재하며, 근조직에 투여해도 연골과 골의 형성을 유도하는 강력한 골유도능이 있다. 미분화된 간엽계 세포에서 전골아세포까지 넓은 범위의 분화단계의 세포에 작용할 수 있으며, 탈회건조골과 혼합하여 치조골 결손에 이식하면 신부착과 치조골 재생이 촉진된다²⁵⁾. PDGF는 혈소판에 포함된 성장인자이며, IGF와의 병용에 의해 골형성 촉진이 인정되는 물질이며, 골아세포의 활성화 및 치주인대세포의 유도와 증식을 촉진한다²⁶⁾. TGF-β는 주로 골기질과 여러 조직에 존재하는 성장인자로 5개의 아형이 있고, 전골아세포를 골아세포로 유도하고 활성화하는 물질이다. BMP와 달리 치주인대 세포에 작용하여 부착을 촉진시킨다^{27, 28)}. 그러나, 이런 성장 인자들은 실험실적 연구와 동물실험을 통해서만 적용되고 있으며, 임상응용되기 위해서는 합성방법의 개발, 적당량을 포함시켜 적절한 시기에 확산시키는 전달물질의 개발이 함께 이루어져야만 한다.

상기의 다양한 인자와 더불어 손상된 치주조직을 재생시키기 위한 새로운 재료들이 개발되고 있으며, 최근 수종의 생약제가 치주조직재생에 효과를 나타낸다고 보고되었다. 이런 생약제로서 홍화씨, 황련, 황금, 후박, 대조 등이 있다. 황련은 치주인대세포의 활성을 촉진하고, IL-6의 생산을 억제한다고 알려져있다²⁹⁾. 황금의 에타놀 추출물이 치조골 재형성의 창상 치유과정에 보조적인 약제로서 가능성이 높다고 보고하였다³⁰⁾. 후박 추출물은 항균효과, IL-1β 및 PGE₂ 생산차단효과, 교원질 분해효소의 활성 억제효과 등이 확인된 바 있고³¹⁻³⁴⁾, 대조추출물은 치은섬유아세포 활성화 증진 효과 등이 확인된 바 있다³⁵⁻³⁷⁾.

이 중 홍화씨는 한의학에서 활혈거어약(活血祛瘀藥)으로 분류되며 국화과에 속하는 1년생 초본식물의 종자로서 칼륨, 마그네슘, 칼슘, 백금 등의 무기질과 β-carotene, adenosine, tocopherol, cystine, lysine, methionine, arginine, linoleic acid 등의 유기질, 비타민 등을 함유하고 있으며, 한의학 분야에서는 분쇄한 분말이나 액상추출물의 형태로 골절과 골다공증의 골질환의 치료에 쓰이고 있다³⁸⁻⁴⁰⁾. β-carotene은 염기성 인산분해효소를 활성화시키며 osteopontin의 발현을 증가시키고 adenosine bisphosphate는 수산화인회석과 강한 친화성으로 골침착을 유도하는 것으로 알려져 있다. Lysine은 골형성에 필요한 세포의 기질의 교원질형성에서 교차결합을 이루게 하는 성분이며 arginine은 성장호르몬과 nitric oxide synthesis을 조절하여 조골모유사세포의 활성을 촉진시키거나 파골세포에 의한 골흡수를 억제시켜 골개조에 관여한다⁴¹⁻⁴⁵⁾. 또한 홍화씨에는 금속이온이 존재하는데 이 중 백금성분은 전기적 교류작용을 유발하여 골절시에 조골모유사세포의 증식과 분화를 촉진시켜 골 재생을 촉진하며, 또한 구리 성분은 골의 주된 성분인 칼슘을 다양한 골세포와 서로 연결시키는 작용을 할 것으로 여겨진다⁴⁶⁾. 골절 치유 작용 이외에 율혈을 위한 치료제로써 adenosine diphosphate에 의한 혈소판 응집억제를 통해 항응혈효과와 항염효과 등이 확인된 바 있다^{36, 37, 47)}.

이와 같은 연구 결과를 바탕으로 본 연구는 홍화씨 추출물이 실제로 골재생에 있어 효과가 있는지를 성

견의 치조골과 경골의 골결손부에 국소투여하여 관찰하였고, 또한 치조골에서는 임상에서 널리 사용되고 있는 이식재인 Bio-Oss®(Osteohealth Co., New York, USA)를 사용하여 비교 관찰하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 생후 1년 6개월 이상이고 체중 18-22 kg의 웅성 성견 두 마리를 사용하였다. 실험기간 동안 고형사료(도그라인, 대한사료공업, 한국)와 수술 직후부터는 연질사료(Mighty dog, Frisies Co., USA)를 공급하여 수술부위를 보호하였다. 분리된 실내 사육실에서 동일한 조건으로 사육하였다.

홍화씨 추출물은 원광대학교 약학대학에 의뢰하여 홍화씨를 분말형태로 분쇄하여 세말로 하고 여기에 약 10배 가량의 증류수를 넣은 후 100℃에서 2시간 환류 추출한 다음 여과하였다. 여액을 동결 건조하여 홍화씨 추출물을 얻었다. 우골유도 합성골은 임상에서 널리 사용되고 있는 Bio-Oss®(Osteohealth Co., New York, USA)를 사용하였다.

2. 실험방법

(1) 결손부 형성 및 처치

① 악골 골결손부

케타라(ketamine, 유한양행, 한국) 5-10 mg/kg와 렘폰(xylazine, Bayer Korea Ltd, 한국) 0.2-1 mg/kg을 근주로 전신마취시킨 후, 좌우측 하악 제 1 소구치부터 제 4 소구치까지 2% 염산 리도케인(1:100,000 epinephrine, 유한양행, 한국)으로 침윤마취시키고 제 2 소구치와 제 4 소구치를 발거하였다. 발거 후, 좌우 제 2, 제 4 소구치 발치와 주위 협측 부위에 1/2 round bur를 이용하여 충분한 생리 식염수 세척하에 가로 10 mm, 세로 10 mm, 깊이 3 mm의 사각형 골결손부를 형성하였다. 악골 골결손부 형성후 아무런 처치없이 봉합한 것을 대조군으로하고, 홍화씨추출물을 넣은 군과 우골유도 합성골인 Bio-oss®(Osteo-

health Co., New York, USA)를 넣은 군을 각각 실험1군, 실험2군으로 하였다. 흡수성 봉합사를 이용하여 판막으로 완전히 피개한 후 봉합하였다.

② 경골 골결손부

개 좌측 경골(tibia)에 악골 골결손부 형성과 같은 방법으로 가로 10 mm, 세로 20 mm, 깊이 5 mm의 사각형 골결손부를 형성하였다. 각각의 골결손부에 한 마리에 홍화씨 추출물을, 다른 한 마리에는 아무런 처치 없이 봉합하여 대조군으로 하였다.

(2) 수술 후 처치

수술직후 창상 보호를 위해 연질사료(Mighty dog, Frisies Co., USA)를 공급하였고, 적절한 창상치유 및 세균감염을 방지하기 위하여 수술 후 첫 2주 동안 매일 가나마이신(Kanamycin, Scientific Feed Co., Korea)을 근육주사(80-90 g/kg body weight)하였으며, 2% chlorhexidine 용액으로 치유기간동안 매일 치태조절을 해 주었다. 봉합사는 1주일 후에 제거하였다.

(3) 조직준비

수술 후 8주째 케타라와 렘폰을 과량으로 근주하여 마취시킨 후, 경동맥을 통하여 0.1 M phosphate buffer에 혼합된 2.5% glutaraldehyde로 관류고정과 함께 회생시켰다. 절제한 악골 및 경골을 동일 고정액에 3일간 추가 고정하였다.

3. 조직소견 관찰 및 조직계측학적 측정

각각의 표본은 formalic acid-sodium citrate방법으로 탈회를 시행한 후, paraffin으로 포매하고, 4μm두께로 조직절편을 만들어, hematoxyline-eosin 염색과 modified Masson-trichrome(Goldner's method) 염색을 실시하고 광학현미경(Olympus BH-2, Olympus Co., Tokyo, Japan)을 통하여 수술부위의 염증세포 침윤, 신생모세혈관 증식, 섬유화, 파골 및 골모세포 활성, 신생골 형성, 골성숙 정도를 —(음성)에서 ±(경미), +(약양성), ++(중양성), +++(강양성)까지 5단계로 구분하여 검정하였다. 조직학적 계측은

Masson's trichrome 염색한 조직표본의 현미경 화상을 Image Pro II 영상분석장치(Media Cybermetrics, USA)를 이용하여 신생골의 양을 측정하였다.

4. 통계분석

조직계측에 대한 통계학적 유의성은 일원분산분석법(one way ANOVA)과 t-test를 이용하여 $p(0.05)$ 수준에서 분석하였다.

III. 연구결과

1. 골결손부의 조직학적 소견

(1) 대조군

하악골 골결손 내부에 염증 및 출혈이 드물게 존재하였으나 파골세포의 활성화는 보이지 않았다. 중심부

에는 소성결합조직 또는 사강으로 이루어져 있었다(Table 1, 2, Figure 1-1, 1-2). 결손부 변연에 신생골 형성이 드물게 관찰되지만, 미성숙 골소주가 대부분인 골로 일부가 채워져 있으며 관상구조의 형태는 관찰되지 않았다(Table 2, 3, Figure 1-2).

경골에서는 하악골에 비해 소성결합조직으로 보다 많이 대체되어 있었으며, 골손상 내부에는 모세혈관증식이 잔존되어 있었고, 주로 숙주골 변연부에 신생골 형성이 미약하게 관찰되었다(Table 1, 2, 3, Figure 1-3, 1-4).

(2) 골이식재 투여 실험군

하악골 결손부는 신경과 혈관이 포함된 소성결합 조직으로 채워져 있고, 주변 숙주골에 골 형성 정도가 미약하였으나(Table 1, 2, Figure 2-1), 결손부 내부에는 신생골 형성이 관찰되지 않았고 섬유조직으로 결손부가 대체되었다(Table 2, 3, Figure 2-2).

Table 1. Histologic finding of inflammatory response to the application of safflower seed extracts and Bio-Oss® on artificial defects of Mongrel dog

	Control		Extract of safflower		Bio-Oss
	Mandible	Tibia	Mandible	Tibia	Mandible
Inflammatory cell	±	±	±	±	±
Angiogenesis	±	+	±	+	±
Fibrosis in defect	+	+	+++	++	±

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

Mn/Ti; in mandible/tibia. Control; bone defects only.

Experimental; application of safflower seeds extract or Bio-Oss® on bone defects.

Table 2. Histologic finding of bone remodeling according to the application of safflower seed extract and Bio-Oss® on artificial defects of Mongrel dog

	Control		Extract of safflower		Bio-Oss
	Mandible	Tibia	Mandible	Tibia	Mandible
Osteoclastic activity	-	-	-	-	-
Osteoblastic activity	±	+	+	+++	±
Bone maturation	±	±	+	+	±
Bone induction	±	+	++	+++	±
Bone conduction	±	+	++	+++	±

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

Mn/Ti; in mandible/tibia. Control; bone defects only.

Experimental; application of safflower seeds extract or Bio-Oss® on bone defects.

Table 3. Effects of safflower seed extract and Bio-Oss® on new bone formation in mandibular and tibial defects of Mongrel dog by histomorphometry (μm^2)(Mean \pm S.D.)

	Control		Extract of safflower		Bio-Oss
	Mandible	Tibia	Mandible	Tibia	Mandible
New bone area	182.5 \pm 71.4	121.7 \pm 48.1	348.0 \pm 104.7*	380.3 \pm 153.4*	201.5 \pm 72.3

* Significant difference compared to control group in mandible ($p < 0.05$).

* Significant difference compared to control group in tibia ($p < 0.05$).

Mn/Ti; in mandible/tibia, Control; bone defects only.

Experimental; application of safflower seeds extract or Bio-Oss on bone defects.

(3) 홍화씨 추출물 투여 실험군

하악골에서는 대조군 및 골이식재 투여군과 달리 골손상부는 신생골로 완전히 둘러싸여 있었으며 내부에는 일정한 방향의 섬유아세포와 교원섬유로 구성된 결합조직 및 조골세포가 관찰되었다(Table 2, 3, Figure 3-1, 3-2). 손상부 중심부를 제외한 모든 부위는 잘 발달된 골소주로 치유되었고 골소주 사이에는 혈관성이 풍부한 결합조직으로 연결되어 있었다(Table 1, 2, Figure 3-3, 3-4).

경골에서는 다른 실험군 및 대조군과 달리 골손상부 자체가 녹색의 섬유조직 대신 초자연골로 대체된 연골내 골화소견을 보였으며 손상부를 충실하게 채우고 있었다(Table 2, 3, Figure 3-5). 또한 일부에서는

손상부의 섬유조직 중심부에서 연골조직으로 대체되는 소견을 보였으며(Figure 3-4) 연골내에는 많은 연골세포와 연골아세포가 관찰되었다(Figure 3-6).

2. 골결손부의 조직계측학적 소견

Image analyzer로 신생골의 면적을 측정한 결과, 전체적으로 대조군 및 골이식재 투여군에는 신생골의 양이 많지 않았으며, 홍화씨 추출물을 국소투여한 군에서는 악골 및 경골 모두에서 비교적 많이 형성되었다(Table 3, 그림 1). 골이식재 투여군보다 대조군의 신생골량이 더 많이 나타난 것은 고찰을 해 봐야 할 것이며, 홍화씨 추출물을 투여한 군은 다른



그림 1. Effects of safflower seed extract (SSE) and bone substitute (Bio-Oss®) on new bone formation. Values represent new bone area (mean \pm S.D.). SSE groups were significantly different from controls ($p < 0.05$).

두 군에 비해 뚜렷하게 많이 증가되어 조직 계측학 적으로도 증가된 양상을 나타냈다. 그리고 경골의 경우는 연골내 골화 과정을 밟는 것이 확인되었다 (Figure 3-3, 3-4, 3-5). 대조군은 신생골 형성면적이 약골의 경우 $182.50 \pm 71.35 \mu\text{m}^2$, 경골의 경우 $121.73 \pm 48.14 \mu\text{m}^2$ 이었고, 골이식재(Bio-Oss®) 투여군 의 경우 $201.52 \pm 72.28 \mu\text{m}^2$ 이었지만, 홍화씨 추출물 투여군의 경우 약골에서는 $348.00 \pm 104.66 \mu\text{m}^2$, 경골에서는 $380.31 \pm 153.40 \mu\text{m}^2$ 로 신생골 형성량이 많이 나타나 다른 두 군에 비해 통계학적으로 유의하였다 (Table 3, Fig. 1)($p < 0.05$).

IV. 총괄 및 고찰

치주질환으로 인해 파괴된 치주조직의 회복을 위해서 여러 가지 수술법이 개발되어져 왔으며, 이 중 골이식술은 파괴된 치조골을 회복하여 부착획득을 얻기 위해 사용한다. 골이식술에 사용되는 이식재는 채취원에 따라 자가골, 동종골, 합성골 등이 있으며, 이 이식재들은 골형성, 골유도, 골전도의 방법으로 골을 재생한다. 골형성은 기존에 존재하는 분화된 선조골세포에 의하여 골이 형성되는 것으로 자가골 또는 골수이식에서 볼 수 있는 방법이다. 골유도는 이식재가 혈관주변에 풍부하게 분포하는 골성 미분화세포로부터 연골세포나 조골세포로 분화되는 단계를 유도하는 것으로 BMP와 BMP를 함유한 탈회골을 이식한 후에 볼 수 있다. 골전도는 이식재 내로 혈관결합조직 및 골성의 세포가 침입하는 것으로 직접적으로 골형성을 못하며, 이식재가 혈관이나 골유도 전구세포 성장을 위한 비계로서 역할을 하는 것이다⁴⁸⁾. 이런 골전도에 있어 중요한 요소는 이식부의 골원성세포의 양과 그 세포활성이 높아야 하며, 이식재료는 골원성 세포가 들어가기 쉬운 구조를 가져야 한다. 높은 골전도를 위해서는 직경이 45-150 μm 의 입자가 만드는 공간에 가장 많은 골세포가 침입하고 이 외의 크기를 사용하면 섬유성 세포가 침투하여 골전도가 일어나지 않으며⁴⁹⁾, 또한 다공성과 거친 면을 가지는 이식재에는 세포의 집락이 유리하다⁵⁰⁾.

본 연구에서 홍화씨 추출물과 Bio-Oss®를 치조골

결손부에 사용하였다. 홍화씨는 한의약 분야에서 골절, 골다공증, 골형성부전등의 각종 골질환에 치료를 위해 분말과 액상추출물의 형태로 사용되고 있다. 그러나, 각종 유기질과 무기질, 영양소들의 혼합물인 홍화씨 추출물은 어떤 성분이 골재생에 관여하는지는 명확히 규명되지는 않고 있으나, 홍화씨 추출물의 국소투여 및 경구투여가 조골세포를 활성화, 골절시 초기염증감소에 영향을 주며, 특히 치주재생에 있어 중요한 역할을 하는 치주인대세포와 치은섬유아세포에 대해 긍정적인 영향을 준다는 연구결과들이 많이 발표되었다.

두 등(1997)⁵¹⁾은 홍화씨가 치은섬유아세포와 치주인대세포, 조골유사세포의 세포활성도를 증가시키고, 치주조직의 재생과 재건에 기여할 수 있을 것이라고 하였다. 강 등(1998)⁵²⁾은 홍화씨 추출물이 치주인대세포와 조골유사세포의 석회화결절 형성의 연구에서 활성을 증가시켜 석회화 결절형성과 골재생에 있어 옥수수로부터 추출한 불검화 정량추출물인 *Zea may L*과 스테로이드인 dexamethasone보다 더 우수하다고 보고하였으며, 홍화씨가 조골유사세포보다 치주인대세포에 민감하게 작용한다고 하였다. 김 등⁵³⁾은 실험적으로 유도된 백서의 늑골 골절 손상 치유에 대해 홍화씨를 섭취시켜 골절치유 초기단계에 가골형성을 유의있게 촉진함을 보고하였고, 또한 홍화분말섭취가 골의 염기성 인산분해효소의 합성을 촉진시켜 골재생을 도모한다고 보고하였다. 윤 등⁵⁴⁾은 홍화씨 추출물이 조골아유사세포의 세포증식과 염기성 인산분해효소 합성을 증가시켰고 백서 두개골 골결손부 형성 후 홍화씨 추출물을 경구 투여하였을 때 골세포에 자극을 주어 미분화 간엽세포에서 조골세포로 분화를 촉진하는 동시에 염증반응 감소 및 파골세포 억제 작용을 하고, TGF- β 와 osteonectin의 발현 증가로 신생골의 형성과 성숙을 촉진시켜 골의 형성과 재생 및 치유과정에 우수한 효과가 있음을 보고 하였다. 김 등(1999)⁵⁵⁾은 실험적으로 유도된 백서의 두개골 결손부의 치유에서 홍화씨 추출물을 투여한 실험군에서 신생골의 형성과 골의 성숙을 유의성 있게 촉진시킴을 보고하였다. James와 Jeffrey는 10% 이하의 골성장이 있는 가장

작은 결손부를 critical size defect(CSD)라고 하였으며⁵⁶⁾, 김 등은 백서의 CSD인 8mm의 골결손부에서는 홍화씨 추출물의 효과가 작은 크기의 골결손부보다 더 늦은 4주 이후에나 나타난다고 하였다.

Bio-Oss[®]는 우골유도합성골로 교차항원의 발현과 감염원을 제거하기 위해 단백질을 제거한 것으로 자가골과 유사한 골소주와 다공성 구조를 가지고 있다⁵⁷⁾. 다른 합성골에 비해 우골유도합성골은 초기치유가 빠르며, 골전도성⁵⁸⁻⁶⁴⁾, 생체적합성도 우수하고 점진적 흡수를 통해 생리적인 성숙골로 개조된다⁶⁵⁻⁶⁷⁾. Richardson 등은 Bio-Oss[®]와 DFDBA의 비교연구에서 골내낭 결손부 이식시 DFDBA보다 1mm이상의 치주낭감소, 1.2mm이상의 부착획득, 9% 많은 골충전을 보였다고 보고하였다⁶⁸⁾. McAllister 등은 Bio-Oss[®]을 이용하여 상악동거상술을 시행하였을때 1년 6개월 후에도 높은 골치밀도와 안정성을 보였으며, 조직학적으로도 자가골로 대체되는 소견을 보였다고 하였다⁶⁹⁾. 본 연구에서 Bio-Oss[®]군은 결손부 중심부에는 신경과 혈관이 포함된 소성결체조직으로 채워져 있는 섬유조직으로 채워져 있었고, 신생골은 골결손부 변연부에서 중심부를 향해 형성되고 있는 조직소견이 관찰되었다.

본 연구에서 치조골 골결손부의 홍화씨 추출물 투여군은 대조군과 Bio-Oss[®]군과는 달리 골결손부는 신생골에 의해서 완전히 둘러싸여 있었으며, 일정한 방향의 섬유아세포와 교원섬유로 구성된 결합조직과 조골세포가 관찰되었다. 또한 잘 발달된 골소주와 골소주 사이의 혈관이 풍부한 결합조직으로서 연결되어 있는 골재생소견을 보였다. 이런 연구결과는 홍화씨 추출물이 골재생시 파골세포의 활성을 촉진시키는 염증을 억제하며, 미분화간엽세포에서 조골세포로의 분화를 촉진시키고, 염기성 인산분해효소 합성촉진 등을 통해 골재생과 성숙을 촉진한다는 앞서의 연구결과와 일치한다.

본 연구에서는 치조골외에도 경골에 골결손부를 형성하여 홍화씨 추출물이 골의 재생이나 치유에 미치는 영향을 평가하였다. 인위적으로 만든 경골 골결손부의 치유양상은 골절이 일어났을때와 유사하다. 골절이 일어나면 초기에 출혈이 일어나며, 응고

된 혈액, 파괴된 골기질은 점차 제거된다. 골성미분화간엽세포로부터 분화된 골아세포는 골결손부의 말단에서부터 축적되면서, 새로운 뼈의 형성을 진행하게 된다. 골결손부의 중심부에서는 섬유아세포의 증식과 모세혈관의 증식이 일어나게되어 골치유에 참여하게 되고, 이후 골결손부위는 가골이라 불리우는 두꺼운 결합조직과 초자연골로 덮히게 된다. 치유가 계속되는 진행 동안 가골내 생성된 교원질과 초자연골은 bony callus로 교체되고, 막성골화와 연골내골화과정을 통해 원래의 가골에 형성된 초자연골이 파골세포에 의해 파괴되고 미성숙골이나 지주골로 교체된다. 이런 골화과정은 사람의 경우 6-12주가 걸리는 것으로 알려져있으며, 개인의 영양상태나 골절형태 등에 따라 다르게 된다. 본 연구에서도 경골결손부의 홍화씨군에서 조직학적으로 섬유조직 대신 초자 연골로 대체된 연골내 골화소견을 보였는데 비해, 대조군에서는 홍화씨군보다 늦은 골치유 양상인 모세혈관증식이 잔존되어있었고, 신생골의 관찰은 숙주골 가까이 있는 변연부에 국한되어 관찰되었다. 이런 연구결과는 홍화씨 추출물의 국소투여가 치조골의 작은 골결손부이외에 경골에 인위적으로 형성한 큰 골결손부의 치유과정, 즉 가골과 연골이 형성되고 다시 재형성과정을 통해 완전히 재생되는 과정을 촉진한다는 것을 보여준다.

본 연구 결과 성견의 치조골과 경골 결손부에 홍화씨 추출물의 국소투여가 골세포에 자극을 주어 골형성을 촉진하는 동시에 염증반응 감소 및 파골세포의 작용억제를 하는 것으로 사료되며, 앞으로 홍화씨 추출물의 임상적 응용과 투여 방법, 농도별 안정성 여부와 더욱 개선된 조직학적 관찰에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결론

치조골 결손부 치유나 골 증대술시 손상부위의 신생골 유도를 촉진 시킬 수 있는 방법을 연구하고자 골절과 골 다공증 등 각종 골질환에 사용되고 있는 생약인 홍화씨 추출물과 임상적으로 쓰이고 있는 골이식재를 인공적으로 형성된 성견의 악골 및 경골

골결손부에 직접 국소 투여하여 골형성과 골유도 등의 골대사에 미치는 효과를 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 파골세포 활성 및 골 성숙, 염증세포 침윤은 대조군 및 실험군간의 차이가 없었으나 신생혈관 증식은 홍화씨 투여군에서 약간 많았다.
2. 골손상부의 섬유화 및 골형성이 홍화씨 투여군에서 가장 많았다.
3. 홍화씨 투여군의 하악골 손상부가 대조군 및 골이식재 투여군보다 치밀한 결합조직 및 골조직으로 치유되었다.
4. 홍화씨 투여군의 경골에서만 연골내 골화가 관찰되었다.
5. 조직계측에 의한 신생골 형성 면적은 홍화씨군에서 대조군 및 골이식재 투여군보다 증가되었으며 통계학적으로 유의하였다($p < 0.05$).

이상과 같은 결과로 골 결손부나 손상시 홍화씨 추출물의 국소 투여는 골형성에 효과가 있어 치조골 결손부 회복시 임상적 적용이 가능할 것으로 생각된다.

VI. 참고문헌

1. Schallhorn R.G.: Present status of osseous grafting procedures. J Periodontol 48:570-576, 1977.
2. Hiatt W.H., Schallhorn R.G., Aaronian A.J.: The induction of new bone and cementum formation. IV. Microscopic examination of the periodontium following human bone and marrow allograft, autograft and nongraft periodontal regenerative procedures. J Periodontol 49:495-512, 1978.
3. Pearson G.E., Rosen S., Deporter D.A.: Preliminary observations the usefulness of a decalcified, freeze-dried cancellous bone allograft material in periodontal surgery. J Periodontol 52:55-59, 1981.
4. Schallhorn R.G.: Postoperative problems associated with iliac transplants. J Periodontol 43:3-9, 1972.
5. Halliday D.G.: The grafting of newly formed autogenous bone in the treatment of osseous defects. J Periodontol 40:511-514, 1969.
6. Levin M.P., Getter L., Cutright D.E., Bhaskar S.N.: Biodegradable ceramic in periodontal defects. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 38:344-531, 1974.
7. Hegedus Z.: The rebuilding of the alveolar process by bone transplantation. Dent Cosmos 65:736-742, 1923.
8. Robinson R.E.: Osseous coagulum for bone induction. J Periodontol 40:503-510, 1969.
9. Diem C.R., Bowers G.M., Moffitt W.C.: Bone blending: A technique for osseous implants. J Periodontol 43:295-297, 1972.
10. Hiatt W.H., Schallhorn R.G.: Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. J Periodontol 44:194-208, 1973.
11. Mellonig J.T., Bowers G.M., Bright R.W., Lawrence J.L.: Clinical evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects. J Periodontol 47:125-131, 1976.
12. Somerman M.J.: Is there a role for DFDBA in periodontal regenerative therapy? J Periodontol 67:946-948, 1996.
13. Mellonig J.T., Bowers G.M., Bright R.W., Lawrence J.L.: Clinical evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects. J Periodontol 47:125-131, 1976.
14. Yukna R.A., Callan D.P., Krauser J.T., Evans G.H., Aichelmann-Reidy M.E., Moore K., Cruz R., Scott J.B.: Multi-center clinical evaluation of combination anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix(ABM)/cell binding peptide(P-15) as a bone replacement graft material in human periodontal osseous defects. 6-month results. J Periodontol 69:655-663, 1998.

15. Richardson C.R., Mellonig J.T., Brunsvold M.A., McDonnell H.T., Cochran D.L.: Clinical evaluation of Bio-Oss: a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Clin Periodontol* 26:421-428, 1999.
16. Mora F., Ouhayoun J.P.: Clinical evaluation of natural coral and porous hydroxyapatite implants in periodontal bone lesions: results of a 1-year follow-up. *J Clin Periodontol* 22:877-884, 1995.
17. Buring K., Urist M.R.: Effects of ionising radiation on the bone induction principle in the matrix of bone implants. *Clin Orthop* 44:225-234, 1967.
18. Mellonig J.T., Prewett A.B., Moyer M.P.: HIV inactivation in a bone allograft. *J Periodontol* 63:979-983, 1992.
19. Valdre G., Mongiorgi R., Ferrieri P., Corvo G., Cattaneo V., Tartaro G.P.: Scanning electron microscopy(SEM) and microanalysis(EDS) applied to the study of biomaterials for dental use. *Minerva Stomatol* 44:55-68, 1995.
20. Kuboki Y., Sasaki M., Saito A., Takita H., Kato H.: Regeneration of periodontal ligament and cementum by BMP-applied tissue engineering. *Eur J Oral Sci* 106:197-203, 1998.
21. Dennison D.K., Vallone D.R., Pinero G.J., Rittman B., Caffesse R.G.: Differential effect of TGF-beta 1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J Periodontol* 65:641-648, 1994.
22. Van Dyke T.E., Irater M.A., Shapira L.: The role of the host response in periodontal disease progression: Implications for future treatment strategies. *J Periodontol* 64:792-806, 1993.
23. Pitaru S., Naraynan S.A., Kotev-Emeth S., Liu H.W., Savion N.: The effect of age on the expression of mineralized tissue progenitors in the periodontium--the effect of bFGF. *J Periodontal Res* 32:179-182, 1997.
24. Centrella M., McCarthy T.L., Canalis E.: Transforming growth factor-beta and remodeling of bone. *J Bone Joint Surg* 73:1418-1428, 1991.
25. Bowers G., Felton F., Middleton C., Glynn D., Sharp S., Mellonig J., Corio R., Emerson J., Park S., Suzuki J.: Histologic comparison of regeneration in human intrabony defects when osteogenin is combined with demineralized freeze-dried bone allograft and with purified bovine collagen. *J Periodontol* 62:690-702, 1991.
26. Lynch S.E., de Castilla G.R., Williams R.C., Kirit-sy 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.
27. Noda M., Camilliere J.J.: In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor-beta. *Endocrinology* 124:2991-2994, 1989.
28. Beck L.S., Amento E.P., Xu Y., Deguzman L., Lee W.P., Nguyen T., Gillett N.A.: TGF-beta 1 induces bone closure of skull defects: temporal dynamics of bone formation in defects exposed to rhTGF-beta 1. *J Bone Miner Res* 8:753-761, 1993.
29. 송기범, 공영환, 유형근, 신형식.: 황련이 Lipopolysaccharide를 처리한 치주인대 세포의 세포활성 및 IL-6 생산에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 26:641-654, 1996.
30. 박준봉, 허 익, 권영혁, 배기환, 정종평.: 황금 (Scutellaria Radix)의 에타놀 추출물이 백서 치조골 형성에 미치는 영향, *대한치주과학회지* 27:443-457, 1997.
31. Bae K.H., Oh H.R.: Synergistic effect of lysozyme on bacterial activity of magnolol and honokiol against a cariogenic bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176. *Arch Pharm Res* 13:117-119, 1990.

32. Osawa K., Matsumoto T., Yasuda H., Kato T., Naito Y., Okuda K.: The inhibitory effect of plant extracts on the collagenolytic activity and cytotoxicity of human gingival fibroblasts by Porphyromonas gingivalis crude enzyme. Bull Tokyo Dent Coll 32:1-7, 1991.
33. 이승렬, 정종평, 최상묵, 배기환.: 천연물추출물의 치주병인균에 대한 항균효과 및 세포독성에 관한 연구. 대한치주과학회지 22:515-526, 1992.
34. 장범석, 손성희, 정종평, 배기환.: Magnolol과 Honokiol이 항균, 교원질분해효소, 세포독성 및 cytokine 생산에 미치는 영향. 대한치주과학회지 23:145-158, 1993.
35. 양창호, 이용무, 조기영, 배기환, 정종평.: 대조추출물이 치은섬유아세포의 생물학적 활성화에 미치는 영향. 대한치주과학회지, 24:144-154, 1994.
36. 조기영, 이용무, 최상묵, 정종평.: 생약추출물이 IL-1 β 의 생성 및 활성화에 미치는 영향. 대한치주과학회지 25:386-396, 1995.
37. 이용무, 구영, 배기환, 정종평.: 후박 및 대조추출 혼합물이 골조직 재생에 미치는 영향. 대한치주과학회지 27:165-178, 1997.
38. 韓藥調製資格取得本叢書2. 東醫學研究所 610-613, 1993.
39. 本草學. 東醫學研究所 319-320, 1993.
40. 本草學. 사단법인 대한약사회 553-555, 1995.
41. Park C.K., Ishimi Y., Ohmura M., Yamaguchi M., Ikegami S.: Vitamine A and carotenoids stimulate differentiation of mouse osteoblastic cells. Nutr Sci Vitaminol 43:281-296, 1997.
42. Bell N.H., Johnson R.H.: Bisphosphates in the treatment of osteoporosis. AADE 6:203-206, 1997.
43. Feres-Filho E.J., Menassa G.B., Trackman P.C.: Regulation of lysyl oxidase by basic fibroblast growth factor in osteoblastic MC3T3-E1 cells. J Biol Chem 271:6411-6416, 1996.
44. Visser J.J., Hoekman K.: Arginine supplementation in the prevention and treatment of osteoporosis. Med Hypotheses 43:339-342, 1994.
45. 류인철, 이용무, 구 영, 배기환, 정종평.: 홍화 추출물이 치주인대세포, 조골세포 활성화에 미치는 영향. 대한치주과학회지 27:867-882, 1997.
46. 이인우, 최진규.: 홍화씨 건강법. 태일 출판사 45-70, 1998.
47. Kutsuna H., Fujii S., Kitamura K., Komatsu K., Nakano M.: Identification and determination of platelet aggregation inhibitor from safflower(*Carthamus tinctorius Linne*). Yakukaku Zasshi 108:1101-1103, 1988.
48. Lane J.M., Sandhu H.S.: Current approaches to experimental bone grafting. Orthop Clin North Am 18:213-225, 1987.
49. Bobyn J.D., Pilliar R.M., Cameron H.U., Weatherly G.C.: The optimum pore size for the fixation of porous-surfaced metal implants by the ingrowth of bone. Clin Orthop 150:263-270, 1980.
50. Inoue T., Cox J.E., Pilliar R.M., Melcher A.H.: Effect of the surface geometry of smooth and porous-coated titanium alloy on the orientation of fibroblasts in vitro. J Biomed Mater Res 21:107-126, 1987.
51. 두진수, 강정구, 유형근, 신형식.: 생약 제제가 세포활성도에 미치는 효과, 대한치주과학회지 27:459-468, 1997.
52. 강정구, 유형근, 신형식.: 홍화씨 추출물이 치주인대세포와 조골유사세포의 골 광물화 작용에 미치는 효과. 대한치주과학회지 28:475-489, 1998.
53. 김준환, 전선민, 안미영, 구세광, 이재현, 최명숙, 문광덕.: 토종 홍화씨의 급여가 실험동물의 늑골 골절 회복중 골조직에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 27:698-704, 1998.
54. 윤동환, 이승철, 김명은, 김은철, 유형근, 김윤철, 신형식.: 홍화씨 추출물이 조골모유사세포 활성화 및 골재생에 미치는 영향. 대한치주과학회지 28:769-784, 1998.
55. 김덕규, 홍성우, 유경태, 서재진, 김홍식, 유형근,

- 신형식.: 홍화씨 추출물의 국소투여가 백서 두개골 결손부 재생에 미치는 영향. 대한치주과학회지 29:297-310, 1999.
56. James C.K., Jeffrey O.H.: Animal models in bone research. Bone Grafts and Bone Substitutes, W.B. Saunders Co. 133-138, 1992.
 57. Frame J.W., Browne R.M., Brady C.L.: HA as a bone substitute in the jaws. Biomaterials 2:19-22, 1981.
 58. McAllister B.S., Margolin M.D., Cogan A.G., Buck D., Hollinger J.O., Lynch S.E.: Eighteen-month radiographic and histologic evaluation of sinus grafting with anorganic bovine bone in the chimpanzee. Int J Oral Maxillofac Implants 14:361-368, 1999.
 59. Hurzeler M.B., Kohal R.J., Naghshbandi J., Mota L.F., Conradt J., Hutmacher D., Caffesse R.G.: Evaluation of a new bioresorbable barrier to facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. An experimental study in the monkey. Int J Oral Maxillofac Surg 27:315-320, 1998.
 60. Valentini P., Abensur D., Densari D., Graziani J.N., Hammerle C.: Histological evaluation of Bio-Oss in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. Clin Oral Impl Res 9:59-64, 1998.
 61. Haas R., Mailath G., Dortbudak O., Watzek G.: Bovine hydroxyapatite for maxillary sinus augmentation: analysis of interfacial bond strength of dental implants using pull-out tests. Clin Oral Impl Res 9:117-122, 1998.
 62. Hammerle C.H., Chiantella G.C., Karring T., Lang N.P.: The effect of a deproteinized bovine bone mineral on bone regeneration around titanium dental implants. Clin Oral Impl Res 9:151-162, 1998.
 63. Berglundh T., Lindhe J.: Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. Clin Oral Impl Res 8:117-124, 1997.
 64. Hurzeler M.B., Quinones C.R., Kirsch A., Glocker C., Schupbach P., Strub J.R., Caffesse R.G.: Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part I. Evaluation of anorganic bovine-derived bone matrix. Clin Oral Impl Res 8:476-486, 1997.
 65. Hurzeler M.B., Kohal R.J., Naghshbandi J., Mota L.F., Conradt J., Hutmacher D., Caffesse R.G.: Evaluation of a new bioresorbable barrier to facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. An experimental study in the monkey. Int J Oral Maxillofac Surg 27:315-320, 1998.
 66. Hensen S.S., Aaboe M., Pinholt E.M., Hjorting-Hansen E., Melsen F., Ruyter I.E.: Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. Int J Oral Maxillofac Implants 11:55-66, 1996.
 67. Klinge B., Alberius P., Isaksson S., Jonsson J.: Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxylapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. J Oral Maxillofac Surg 50:241-249, 1992.
 68. Richardson C.R., Mellonig J.T., Brunsvold M.A., McDonnell H.T., Cochran D.L.: Clinical evaluation of Bio-Oss®: a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. J Clin Periodontol 26:421-428, 1999.
 69. McAllister B., Margolin M., Cogan A., Buck D., Hollinger J., Lynch S.: Eighteen-Month Radiographic and Histologic Evaluation of Sinus Grafting with Anorganic Bovine Bone in the Chimpanzee. Int J Oral Maxillofac Implants 14:361-368, 1999.

사진부도 설명

- Figure 1-1. Microphotography of bone remodeling at mandible in control groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 40$). Arrow indicates dead space surrounded by mild new bone.
- Figure 1-2. Microphotography of bone remodeling at mandible in control groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 100$). Arrow indicates hematopoietic bone marrows bounded in mild new bone.
- Figure 1-3. Microphotography of bone remodeling at tibia in control groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 40$). Arrow indicates vascular loose connective tissues surrounded by strand-like new bone.
- Figure 1-4. Microphotography of bone remodeling at tibia in control groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 100$). Arrow indicates newly formed bone.
- Figure 2-1. Microphotography of bone remodeling at mandible in Bio-Oss[®] groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 40$). Arrow indicates thin membrane-like new bone.
- Figure 2-2. Microphotography of bone remodeling at mandible in Bio-Oss[®] groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 100$). Arrow indicates newly formed bone.
- Figure 3-1. Microphotography of bone remodeling at mandible in safflower seed extract groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 40$). Arrow indicates new bone (lower) and dense connective tissues (upper).
- Figure 3-2. Microphotography of bone remodeling at mandible in safflower seed extract groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 100$). Arrow indicates new bone (lower) and well developed dense connective tissues (upper).
- Figure 3-3. Microphotography of bone remodeling at tibia in safflower seed extract groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 40$). Arrow indicates new bone (left) and old bone (right).
- Figure 3-4. Microphotography of bone remodeling at tibia in safflower seed extract groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 100$). Arrow indicates osteoid tissues with highly vascularized tissues.
- Figure 3-5. Microphotography of bone remodeling at tibia in safflower seed extract groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 40$). Arrow indicates cartilaginous bony change.
- Figure 3-6. Microphotography of bone remodeling at tibia in safflower seed extract groups (Goldner's Masson-trichrome stain $\times 100$). Arrow indicates osteocyte (lower) and chondrocyte (upper).

사진부도(1)

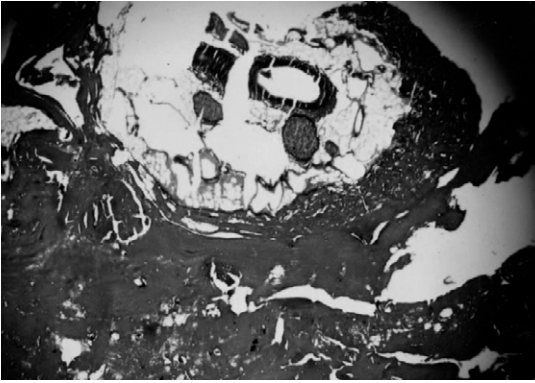


Figure 1-1

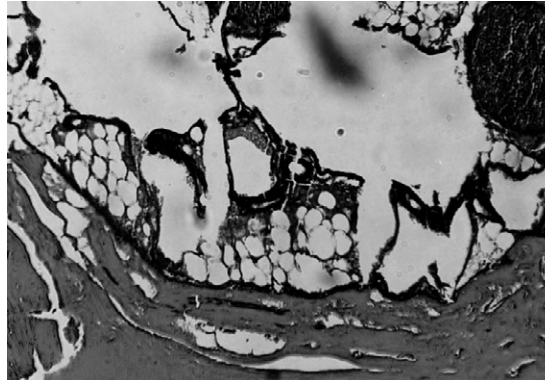


Figure 1-2

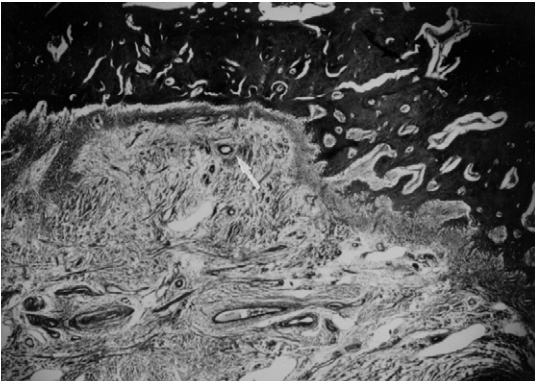


Figure 1-3

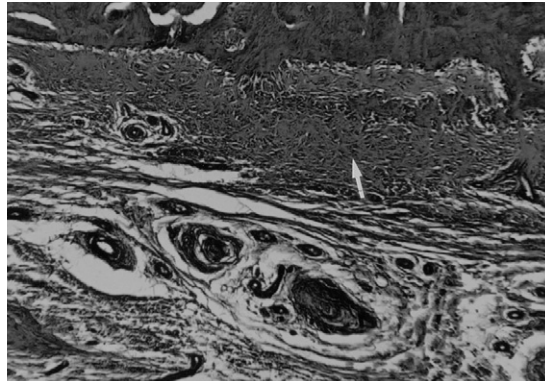


Figure 1-4

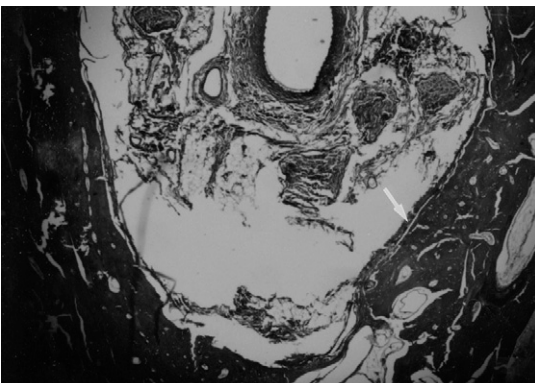


Figure 2-1

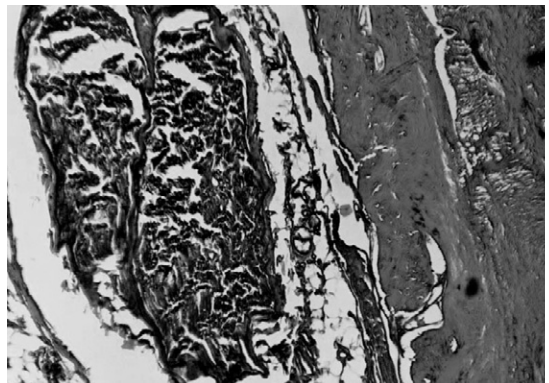


Figure 2-2

사진부도(Ⅱ)

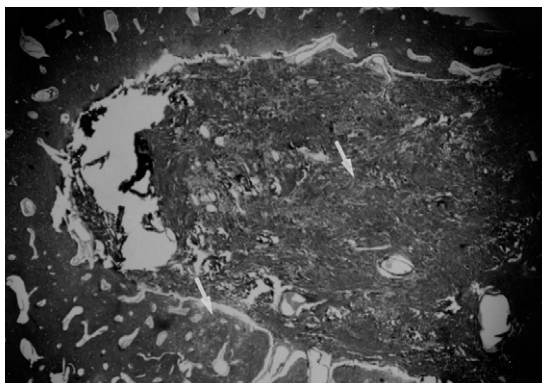


Figure 3-1

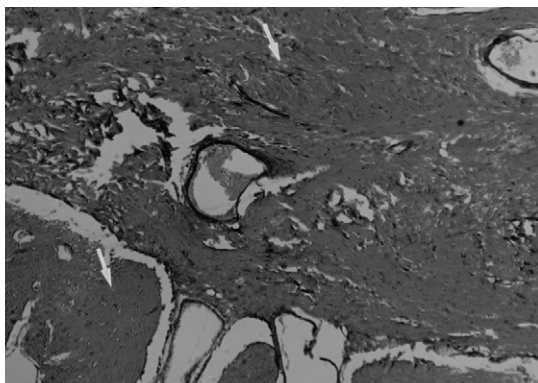


Figure 3-2

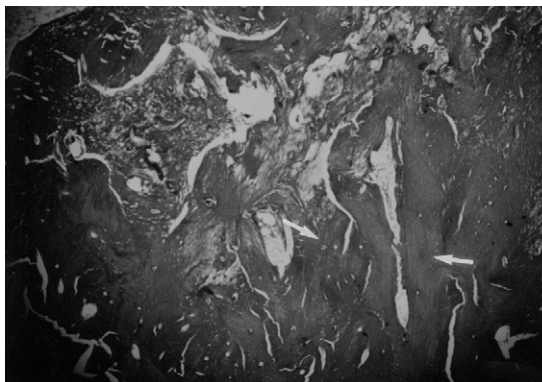


Figure 3-3

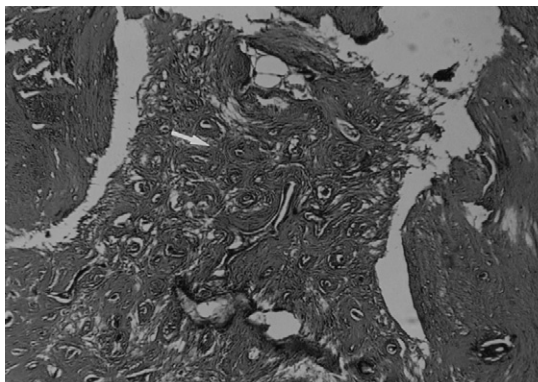


Figure 3-4

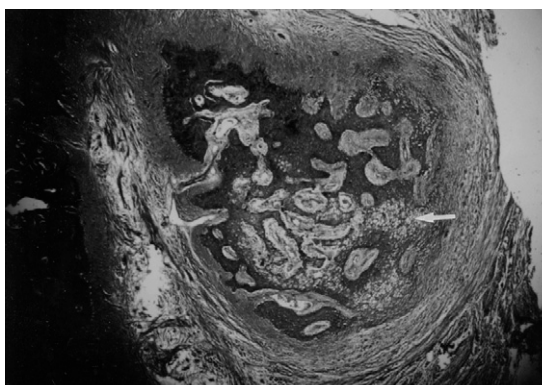


Figure 3-5



Figure 3-6

Effects of Safflower Seed Extracts and Bovine Bone on Regeneration of Bone Defects in Mongrel Dogs

Jae-Jin Seo, Tak kim, Sung-Hee Pi, Gi-Yon Yun, Hyung-Keun You, Hyung-Shik Shin

Department of Periodontology, School of Dentistry, Wonkwang University

Many natural medicines have been studied for their capacity and effects of anti-bacterial, anti-inflammatory and regenerative potential in periodontal tissues. Safflower seed has been traditionally used as a drug for treatment of bone fracture in oriental medicine.

The purpose of the present study was to compare the effects of safflower seed extract and bone substitute on bone formation and regeneration in artificial defects in mongrel dogs. The bony defects were made with round bur at mandible and tibia. Extracts of safflower seed and bovine bone were placed directly at each defect for experimental group, and the defect of control group was sutured without any other treatment. Experimental animals were sacrificed at 8 weeks. And then histopathologic reading and histomorphometric study was done.

There was not significant differences between control and experimental groups in osteoclastic activity and infiltration of inflammatory cells. However, new capillary proliferation, fibrosis and new bone formation were prominent in safflower seed extract group. The mandibular defects of safflower seed extract group were healed with dense connective and bony tissues, and endochondral bone formation was observed in tibial defect of safflower seed extract group only. New bone area of safflower seed extract group was more significantly increased than that of control and that of bone substitute group.

These results indicate that direct local application of safflower seed extracts on bony defects seems to reduces the early inflammatory response and to promotes the bone regeneration.