

구연산, 테트라사이클린, 섬유소 전색제로 처리된 상아질면에 대한 결체조직의 조기부착

서울대학교 치과대학 치주과학교실*, 구강해부학교실** 및 치학연구소

이혜자* · 한수부* · 고재승**

목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험결과
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고 문헌
- 영문 초록
- 논문사진부도

I. 서 론

치주질환의 치료시에 새로운 치주조직의 재생을 도모하기 위하여 많은 외과적 술식이 시행되어 왔으나, 이러한 외과적 술식만으로는 치주조직의 재생은 얻을 수 없었으며, 그 결과는 새로운 결체조직의 부착이 아니라 긴 접합상피에 의한 상피부착이었다¹⁻³⁾.

최근에는 치주조직의 재생 및 신부착을 위하여 치주조직의 치유중에 상피의 치근단 전이를 지연 내지 차단시키고, 치주인대세포의 선조세포를 치근표면으로 유도하는 신생 결체조직의 부착을 위한 술식이 시도되어 왔는데, 상피세포의 치근단 전이를 배제하는 밀리포어필터나 테프론막을 사용하여 치주조직의 재생 내지 결

체조직의 부착을 얻는 방법이었다¹⁰⁻¹²⁾.

치관변위 판막술도 상피세포의 이동을 지연시킬 뿐만 아니라 치근표면에서 일어나고 있는 치유창상을 안전하게 보호할 수 있는 방법으로 추천되고 있으며, 최근에는 치근 분지부의 결손에 많이 사용되고 있다¹³⁻¹⁸⁾.

치근 표면에 새로운 결체조직의 부착을 저해하는 요소로는 내독소에 의한 백악질의 변성과^{13,15)} 점합상피의 치근단 전이가^{16,17)} 주요인으로 보고된 후 치주수술시에 치근표면과 수술조직의 다양한 처리는 노출된 백악질과 치근 상아질을 좀 더 생체에 적합하도록 하여 치유과정에서 능동적인 역할을 한다는 것이 알려지게 되었다. 즉, 치근면을 구연산으로 처리하면 이전에 노출된 치근표면에 교원성 섬유가 재부착된다는 보고가 있는 후¹⁹⁾, 구연산이나 테트라사이클린을 이용한 치근표면처리에 관한 많은 연구들이 보고되어 왔다²⁰⁻²⁴⁾. 이러한 방법들은 파이브로넥틴의 도포시와 마찬가지로 치근표면에서 혈병의 점착과 성숙을 증가시키기도 한다. 그러나 실험결과들이 서로 상이하였고, 특히 사람을 대상으로 한 임상적인 평가는 일정하지 않았다.

세포의 분화, 운동성 및 부착을 조절하는 여러가지 생물학적 물질들이 발견되고 연구되어 왔다. 세포외성 기질 단백질과 성장인자들의

*이 연구는 1993년도 서울대학교병원 지정 연구비 (02-93-239) 지원에 의한 결과임.

II. 재료 및 방법

1) 실험동물

18마리의 Newzealand white계 웅성 가토(체중 3.5kg)를 실험동물로 사용하였다.

2) 상아질편의 준비

서울대학교 병원 치주과에 내원한 환자중에서, 치아우식증이나 치수병소가 없이 중증 치주질환으로 인해 발거된 치아를 사용하였다. 발거된 치아는 그레이시 큐렛으로 치근 표면이 딱딱하고 평활한 감이 느껴질 때 까지 활택을 시행하였다. 그런 후 0.2% Chlorhexidine 용액에 소독의 목적으로 24시간 정도 넣어 두었다가 생리식염수로 세척한 후 다시 사용시까지 생리식염수에 담겨져 냉장고에 보관되었다. 실험에 사용될 상아질 시편은 백악-법랑질 경계선으로부터 4~6mm 떨어진 치주낭에 노출되었던 치근부분을 사용하였다. 이 부분을 저속도 다이아몬드절단기(Isomet)를 이용해 증류수로 냉각시키면서 대략 1×2×2mm 크기의 상아질편을 84개 제작하고 이를 소독하기 위하여 70% ethyl alcohol에 30분간 3회, ethyl ether 용액에 30분간 3회씩 담가두었다가 건조시켰다.

84개의 상아질 시편중 21개는 10% tetracycline Hcl 수용액에 5분간, 21개의 상아질편은 pH 1의 구연산 포화수용액에 3분간 담근 후 각각 생리식염수로 세척하였고, 또다른 21개의 상아질편은 섬유소 전색제*로 5분간 처리하여, 치근활택술만 행한 21개의 대조군과 함께 성토의 구강점막내에 삽입하였다.

3) 외과적 처치

모든 외과적 술식은 Ketamine hydrochloride(30mg/kg)를 이용한 전신마취하에 행해졌고, 수술시 구강주위는 0.2% Chlorhexidine으로 소독하였다. 각 가토당 4개의 상아질편을

국소적 도포가 치주조직의 재생을 촉진한다는 많은 가설이 제시되고 있으나²⁵⁻³⁶⁾ 이 가설을 입증하는 연구결과들은 아직 부족하다. 파이프 로넥틴이 치주재생을 촉진하고 세포활성을 증가시킨다고 발표되었으나^{37,38)}, 그 효과에 대해서는 논란이 있다. 근래에는 섬유소로 전색하는 방법(fibrin and fibronectin sealing system)이 치주조직 재생술에 함께 사용되어 좋은 결과가 보고되었다^{39,40)}.

위에 언급된 모든 치료방법들은 이전에 병적이던 치근표면에 결체조직부착이라는 형태의 수복을 이루는 데 기여할 수 있다. 그러나 이러한 술식들의 결과는 그 자체가 가지고 있는 독특한 인자 때문인지 혹은 수술방법에 관계없이 일어날 수 있는 비특이성 생물학적인자에 기인하는 것인지 혹은 양자가 다 관련되는 것인지는 명확하지 않다.

최근의 실험들은 치근표면이 나타내는 한 가지만의 생물리학적 요소에 의해서 치유의 결과가 좌우되지 않음을 보여주었고⁴¹⁻⁴⁵⁾, 동물실험에서 외과적으로 만들어진 치주결손부에서 치주재건수술 후 거의 완전한 결체조직의 회복이 일어났음을 보여주었다^{42,44)}. 이러한 실험들은, 치주조직의 재건수술 후 치근표면에 나타나는 결체조직의 수복은 치근표면에 부착하는 섬유소 응괴의 안정과 유지라는 작용에 의한 것이라 하였다. 또한 결체조직의 재생을 유도하기 위하여 막 형태의 재료를 치은관막하에 넣어서 얻어진 좋은 결과는 창상안정의 결과라는 관심을 끄는 보고들이 있어¹⁰⁻¹²⁾, 새로운 결체조직의 부착을 저해하는 요소가 치근표면의 상태인지, 치주인대 세포의 결핍인지 혹은 창상의 불안정 인지 이에 대한 관심이 높다.

구강점막하에 상아질편의 이식은 상아질과 결체조직사이에 상피의 계재를 배제하고, 치주인대세포가 결핍된 상태를 제공한다. 이 연구의 목적은 결체조직만 존재하는 조건하에서 상아질을 구연산, 테트라사이클린 및 섬유소 전색제로 처리하였을 때 상아질편에서 조기 결체조직의 부착상태를 관찰하고 치근면의 처리효과를 비교하기 위한 것이다.

* : Beriplast P, Behringwerke Ag, Marburg/ Lahn, Germany

구강조직에 삽입하였는데, 상악 우측은 테트라 사이클린, 상악 좌측은 섬유소 전색제, 하악 좌측은 구연산으로 처리한 상아질편이 삽입되었다. 그리고 하악우측에는 대조군의 상아질편을 삽입하였다. 가토의 치은치조점막 경계부 아래에 3mm의 수직 절개선을 협점막에 절개 하였으며, 절개선은 예개 (sharp dissection)의 방법으로 깊게 하여 점막하에서 주머니모양을 만들었다. 박리된 조직하부에 상아질편을 넣고, 중앙부위에 4-0실크 봉합사를 이용해 봉합하였고 봉합사는 7일 후 제거하였다. 수술 후 실험동물은 Ampicillin Hcl(50mg/Kg)을 하루 두번 3일간 근육주사 하였고, 조직절편 채취시까지 실험실용 규정식으로 사육하였다.

4) 조직학적 관찰

상아질편 삽입 후 1시간, 6시간, 1일, 3일, 7일, 14일후 각각 3마리의 성토를 pentobarbital sodium(Entobar® 한림제약 25mg/kg)으로 전신마취 후 2.5% glutaraldehyde-2% paraformaldehyde 혼합액으로 관류고정한 다음, 상아질편과 주위 연조직 및 악골을 같이 채취하였다. 조직편은 곧바로 4°C에서 2.5% glutaraldehyde(0.1M cacodylate 완충액, pH 7.2) 고정액에 2시간 동안 전 고정 후, 10분간 2번 cacodylate 완충용액으로 세척한 후 2.5% glutaraldehyde가 포함된 0.1M EDTA 용액으로 탈회하였다. 탈회된 조직을 1% OsO₄(0.1 M cacodylate 완충액, pH 7.4)로 고정한 후 epon 수지에 포매하여 NOVA 초박절편기#로 1μm두께로 절편을 만들어 조직편을 0.1% toluidine blue 용액으로 염색한 후 광학현미경으로 관찰하고, 80nm 두께로 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 염색 후 JEOL 1200EX 투과전자현미경하에서 관찰하였다.

III. 실험결과

매식 부위의 점막은 임상적으로 치유가 잘

#: NOVA, LKB, England

되어 있었고, 모든 상아질 매식물은 매식부위에 잔존하고 있었다. 현미경관찰에서 때때로 상아질 표면과 그에 인접한 조직사이가 분리된 것이 있었는데 이는 아마도 조직절편을 다루는 표본제작 과정에서 생긴 외상에 의한 것으로 생각되었다. 이중 상아질에 대한 항원효과는 관찰할 수 없었다.

1. <1시간후 소견>

광학현미경상에서 모든 군에서 상아질과 치은판막사이의 인접면은 혈장단백질과 그 속에 뺨뺨히 들어찬 적혈구로 접촉하고 있었으며, 때때로 섬유소의 가닥과 과립모양의 침전물들이 보였다. 섬유소 전색제로 처리된 군에서는 상아질 표면에 일정한 두께의 전색제가 나타났다(그림 1, 2). 전자현미경 상에서도 광학현미경 소견과 비슷하였으나, 대조군 시편의 표면에 electron dense line이 보이고, 그 위에 삼출물이 부착되는 양상과 세포잔사물이 관찰되었다(그림 3, 4).

2. <6시간후 소견>

시편 주위에서 혈장단백질과 아울러 섬유망 구조가 보였으나 테트라사이클린과 구연산으로 처리된 군에서는 시편표면에 섬유망구조가 부착되는 양상이 관찰되었다. 섬유소 전색제로 처리된 군에서는 여전히 얇은 전색제가 보였다. 모든 군에서 적혈구와 더불어 다형핵백혈구가 나타나기 시작하였다(그림 5, 6, 7).

전자현미경 상에서 시편 주위의 섬유망상구조 내에 적혈구와 세포잔사물이 산재하고 있었다.

섬유소 전색제로 처리한 군에서는 상아질면에 섬유소 전색제로 간주되는 섬유소 망상구조가 부착된 양상을 나타내고, 이 섬유소 망상구조 외측에 생리적으로 신생된 섬유소가 망상을 이루고 있었다(그림 8, 9).

3. <1일후 소견>

모든 군에서 섬유망구조가 시편에 부착되어 있었고 다형핵백혈구가 관찰되었다. 구연산과 섬유소전색제로 처리된 군에서는 대식세포도 관찰되었다. 구연산 처리군에서 타원형을 갖는 방추형의 섬유아세포와 비슷한 세포들이 상아질 표면에 부착되어 있었으며 섬유소 전색제 처리군에서 미세한 전색제가 부착되어 있었다(그림 10, 11, 12).

전자현미경 상에서 보다 섬세한 섬유망상구조가 관찰되었으며, 구연산 처리군에서 상아질면에 부착되어 존재하는 대식세포도 관찰되었다(그림 13, 14).

4. <3일후 소견>

교원질이 모든 군에서 관찰되었으나 테트라사이클린과 구연산으로 처리된 군에서는 활성중인 섬유아세포와 신생 모세혈관 및 교원섬유형성이 관찰되었다. 모든 군에서 다형핵백혈구와 대식세포가 관찰되었으나 전색제 처리군에서 보다 많은 다형핵백혈구와 세포산물이 많이 존재하였다(그림 15, 16). 전자현미경 상에서 대조군과 전색제 처리군에서는 상아질 표면에 electron dense line이 나타났다. 모든 군에서 섬유망상구조가 보였으나 테트라사이클린 및 구연산 처리군에서 시편표면에 뚜렷한 섬유망상구조의 부착이 관찰되었다(그림 17, 18, 19).

5. <7일후 소견>

대조군에서 활성 섬유아세포가 많이 보이고 교원섬유의 형성이 관찰되었으며 표층에 섬유성피막이 형성되어 있었다. 테트라사이클린 및 구연산으로 처리된 군에서는 상아질표면에 섬유아세포의 부착과 교원질 섬유의 형성이 보였다. 전색제 처리군에서도 섬유성피막이 형성되어 있었다(그림 20-23).

전자현미경의 소견은 광학현미경의 소견과 비슷하나 테트라사이클린 처리군과 구연산 처리군에서는 과립내형질세포가 잘 발달된 활성

적인 섬유아세포들이 관찰되었으며 교원질섬유가 잘 형성되어 있었다. 대조군에서는 소량의 교원섬유 형성이 있었으며 전색제 처리군에서는 그 형성이 불량하였다(그림 24, 25, 26).

6. <2주후 소견>

대조군 테트라사이클린 그리고 구연산 처리군에서는 활성중인 섬유아세포가 1주에 비하여 길게 신장되어 있었고, 상아질면에 존재하며 세포간질에 교원섬유가 많이 형성되어 있었다. 소수의 대식세포와 림프구가 보였다. 섬유소 전색제로 처리된 군에서는 상아질면에 대식세포양 세포들이 출현하고 이 층에 활성 섬유아세포들로 구성된 섬유성 피막이 관찰되었으나 세포사이의 교원질섬유형성은 소량이었다(그림 27-30).

전자 현미경상에서 구연산 처리군에서 미소용모, 짧은 과립내형질세포, 유리 라이보솜이 발달된 섬유아세포도 관찰되었다(그림 31).

IV. 총괄 및 고안

결체조직의 상아질면에 조기부착은 혈장단백질이 상아질면에 흡착되고 뒤이어 섬유소 응괴가 생기는 것으로 시작되었다.

치주수술 직후에 치근면과 치은판막 사이에는 혈액으로 차게 되고 혈장 단백질이 수초 혹은 10분 내에 창상면에 침착하게 된다⁴⁵⁻⁴⁷. 우리들의 관찰에서도 상아질편을 이식한 1시간 후 상아질 표면에 혈장 단백질의 과립 침전물과 그 사이에 흩어져 있는 적혈구들을 관찰할 수 있었으며, 과립 침전물은 상아질편에 부착되어 있는 것 처럼 보였다. 혈장 단백질은 치유초기에 아주 중요한 섬유소 응괴를 부착시키는 기초를 이루게 된다^{45,46}. 상아질면의 처리와 관련되는 특이한 소견은 관찰되지 않았으나 섬유소 전색제로 처리한 군에서는 일정한 두께의 전색제가 뚜렷이 관찰되었다.

술후 6시간 후에 다형핵백혈구가 나타나고 1일째에 다형핵백혈구의 수가 뚜렷이 증가되는 것이 소수의 대식세포와 더불어 관찰되었다.

다형핵백혈구는 상아질 표면으로 근접하는 것 같았다. 이러한 다형핵백혈구의 주요기능은 세균과 손상된 조직의 포식작용이며 대식세포는 조직의 치유 초기에 중요한 역할을 한다고 하였다⁴⁸⁾. 각 군 공히 비슷한 소견을 보였으나 전색제처리군에서는 인조섬유소로 간주되는 섬유소 망상구조와 상아질면에서 멀리 있는 치유과정의 섬유소 망상구조가 보였다. 개의 하악 치조골에 외과적으로 상아질 시편을 이식하였을 때 관찰된 상아질-결체조직 인접면의 조기 부착 소견과 일치하였다⁴⁷⁾.

1일째에 상아질 시편에 부착된 섬유소망상구조는 더욱 섬세하였으나 상아질편의 대부분에서 섬유소 응괴의 부착을 여전히 관찰할 수 있었는데, 개에서의 상아질시편 이식 1일째의 소견과 비슷하였다^{48,50,51)}. 원숭이에서 치주조직의 천공이나 열개 등의 창상의 소견과 재식된 치아와^{52,53)} 쥐의 경피에 상아질을 매식한⁵⁴⁻⁵⁶⁾ 초기 연구결과와는 대조적으로 섬유소 응괴가 1일째에 상아질에 부착되어 있었다. 이것은 다른 창상에서 유도된 긴장 정도의 차이를 반영하는 것일 수 있다. 인장력이 존재할 때, 창상 파열이 상아질 표면에서 생길 수 있다. 이러한 현상은 창상이 새로운 결합조직의 부착으로 치유되는가 혹은 긴 접합상피로 치유되는가를 결정하는 필수적인 열쇠가 될 수 있다⁴⁷⁾. 성숙한 섬유소 응괴에 의한 치근면과 치은판막사이의 부착이 안정된다면 이것은 수술결과에 결정적인 영향을 준다. 안정된 섬유소 부착이 없다면 치주결손부는 상피화된다⁵³⁾. 구연산 처리군에서 섬유아세포양의 세포가 부착되는 것이 관찰되었다. 전색제 처리군에서 미세한 피막이 여전히 보이고 섬유소망상구조는 치밀하지 않았다.

3일째에 다형핵백혈구와 대식세포가 많이 관찰되었으나 조직의 회복기라고 생각될 수 있는 섬유아세포의 활성이 증가되고 신생모세혈관도 보였다. 이 시기에서 대식세포는 주 식세포이며 혈관형성과 섬유아세포의 증식과 성숙을 자극할 수 있는 성장인자를 유리하는 것으로 알려져 있다⁵⁶⁾. 이 실험의 소견은 원숭이와 개에서 치주조직의 천공이나 열개에서의 3일째 소

견과 큰 차이가 없었다^{49,57,58)}. 구연산으로 처리된 군에서도 활성 섬유아세포, 모세혈관과 교원질섬유의 형성이 보였고 개에서의 관찰결과와 비슷하였으나⁴⁷⁾ 이 시기에서 구연산의 이점은 관찰할 수 없다.

7일째에 풍부한 활성섬유아세포와 교원섬유가 상아질면에 평행하게 부착되어 있었다. 이러한 관찰은 다른 연구결과들과 일치하였다²⁰⁾. 테트라사이클린 혹은 구연산 처리군이 다른 군에 비해서 많은 활성섬유아세포와 양호한 교원질 섬유의 존재를 보였다.

산의 국소적 도포는 치근표면을 부분적으로 탈회시키며 교원질 섬유를 노출시키고 이러한 영향으로 결체조직의 부착을 향상시키고 상피의 전이를 방지시키는 것으로 알려져 있다¹⁹⁻²³⁾. 치근이개부에서 구연산 혹은 테트라사이클린을 도포시 완전한 결체조직의 부착 내지는 결체조직의 부착이 유도되는 것으로 보고되고 있다⁵⁹⁾. 저자들의 실험결과는 구연산 혹은 테트라사이클린의 도포가 치근면에 결체조직의 부착을 좋게하는 상태를 제공하는 것으로 생각된다.

파이버넥틴이 시험관내 실험에서 치주인대 세포와 치은 섬유아세포의 유착과 이동을 증가시키며^{26,28)}, 섬유소 전색제를 치주조직재생술에 병행하여 사용시에 좋은 결과를 얻었다는 보고가 있다^{38,39)}. 저자들의 실험에서는 섬유소 전색제로 처리된 군에서 교원질의 형성이 불량한 것으로 관찰되었는데, 최근 동물실험에서도 파이버넥틴의 도포가 치근이개부에서 결체조직의 부착을 증가시키지 못하였다고 보고되었다⁵⁹⁾.

전색제의 도포시 그 두께가 치유에 장애가 되는 것으로 보였는데, 전색제의 피막이 7일까지 뚜렷이 상아질 면에서 발견되었으며, 자연 치유시에 생성되는 섬유소 응괴와는 결합되지 않은 것 같았으며 2주까지 교원질의 형성이 양호하지 않았다.

2주일째에서의 소견은 활성섬유아세포가 더욱 신장되고 세포간질에 교원섬유가 많이 형성되어 있었으며, 여전히 상아질면에 평행하게 부착되어 있었다. 사람에서의 실험은 2주째에

교원질 섬유질의 이식된 상아질 면에 대한 부착 양상이 다양하여 수직, 사선, 혹은 평행의 부착을 보고하였으나⁶⁰⁾, 저자들의 실험에서는 부착양상이 모두 평행이었다. 기능이 없어도 기능적인 방향의 교원섬유 부착을 보고한 실험들이 있으나, 우리들의 실험이 짧았기 때문에 언급할 수 없다. 구연산 처리군이 다른 군에 비해서 보다 활성적인 섬유아세포와 풍부한 교원질섬유를 보였다. 구연산이 치근면을 생물학적으로 결체조직과 적합하도록 하는 것 같았다⁶¹⁾. 저자들의 관찰결과는 술후 초기에 결체조직이 상아질면에 부착하는 것은 처음에 혈장단백질이 상아질면에 흡착되고 뒤이어서 섬유소 응괴가 생기고 그것이 성숙함으로써 이루어지는 것으로 확인되었다. 치근표면의 산 처리는 술후 초기에는 큰 영향을 미치는 것으로 보이지 않았으나 시간이 경과함에 따라 결체조직의 부착양상이 양호하게 나타났으며, 구연산 혹은 테트라사이클린은 새로운 결체조직이 치근면에 잘 부착할 수 있는 상태를 제공하는 것으로 나타났다.

V. 결 론

이 연구의 목적은 응성가토의 구강 점막하에 구연산, 테트라사이클린, 섬유소 전색제로 처리된 상아질편을 삽입하였을 때 상아질면에서 결체조직의 조기부착 상태를 관찰하고 치근면 처리효과를 비교하고자 하였으며 다음과 같은 결론을 얻었다.

결체조직의 상아질면에 조기부착 양상은 혈장단백질이 상아질면에 흡착되고 뒤이어서 섬유소 응괴가 생기는 것으로 시작되며, 테트라사이클린과 구연산은 상아질면이 생물학적으로 결체조직과 잘 적합하는 데 어떤 역할을 하는 것으로 생각되었다.

REFERENCES

1. Caton JG, Zander HA. The attachment between tooth and gingival tissue after periodontal root planing and soft tissue curettage. *J Periodontol* 1979; 50:462-466.
2. Caton JG, Nyman S. Histometric evaluation of periodontal surgery. I. The modified Widman flap procedure. *J Clin Periodontol* 1980; 7:212-223.
3. Caton JG, Nyman S, Zander HA. Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. *J Clin Periodontol* 1980; 7:224-231.
4. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1982; 9:290-296.
5. Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 1984; 11:494-503.
6. Becker W, Becker BE, Prichard JF, Caffesse R, Rosenberg E, Gian-Grasso J. Root isolation for new attachment procedures. A surgical and suturing method: Three case reports. *J Periodontol* 1987; 58:819-826.
7. Crigger M, Bogle G, Nilveus R, Egelberg J, Selvig KA. The effect of topical citric acid application on the healing of experimental furcation defects in dogs. *J Periodont Res* 1978; 13:538-549.
8. Nilveus R, Bogle G, Crigger M, Egelberg J, Selvig KA. The effect of topical citric acid application of the healing of experimental furcation defects in dogs. II. Healing after repeated surgery. *J Periodont Res.*, 1980; 15:544-550.
9. Klinge B, Nilveus R, Egelberg J. Effect of crown-attached sutures on healing of experimental furcation defects in dogs. *J Clin Periodontol* 1985; 12:369-373.
10. Klinge B, Nilveus R, Kiger D, Egelberg J.

- Effect of flap placement and defect size on healing of experimental furcation defects. *J Periodont Res* 1981; 16:236-248.
11. Martin M, Gantes B, Garrett S, Egelberg J. Treatment of periodontal furcation defects. (1) Review of the literature and description of a regenerative surgical technique. *J Clin Periodontol* 1988; 15:227-231.
 12. Gantes B, Martin M, Garrett S, Egelberg J. Treatment of periodontal furcation defects (II) Bone regeneration in mandibular class II defects. *J Clin Periodontol* 1988; 15:232-239.
 13. Aleo JJ, De Renzis FA, Farber PA, Varboncoeur AP. The presence and biological activity of cementum-bound endotoxin. *J Periodontol* 1974; 45:672-675.
 14. Aleo JJ, De Renzis FA, Farber PA. In vitro attachment of human gingival fibroblasts to root surfaces. *J Periodontol* 1975; 45:639-645.
 15. Lopez NJ, Belvederessi M, De la Sotta R. Inflammatory effects of periodontally diseased cementum studied by autogenous dental root implants in humans. *J Periodontol* 1980; 51:582-593.
 16. Bjorn H. Experimental studies on reattachment. *Dent Pract* 1961; 11:351-357.
 17. Bjorn H, Hollender I, Lindhe J. Tissue regeneration patients with periodontal disease. *Odontol Revy* 1965; 16:317-326.
 18. Register AA, Burdick FA. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. II. Defect repair. *J Periodontol* 1976; 47:497-505.
 19. Register AA. Bone and cementum induction by dentin demineralized in situ. *J Periodontol* 1973; 44:49-54.
 20. Ririe CM, Crigger M, Selvig KA. Healing of periodontal connective tissues following surgical wound and application of citric acid in dogs. *J Periodont Res* 1980; 15:314-327.
 21. Bjorvatn K. Scanning electron-microscopic study of pellicle and plaque formation on tetracycline-impregnated dentin. *Scand J Dent Res* 1986; 94:89-94.
 22. Wikesjo UME, Baker PJ, Christersson LA, et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: Tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J Periodont Res* 1986; 21:322-329.
 23. Garrett JS, Crigger M, Egelberg J. Effects of citric acid on diseased root surfaces. *J Periodont Res* 1978; 13:155-163.
 24. Terranova VP, Martin GR. Molecular factors determining gingival tissue interaction with tooth structure. *J Periodont Res* 1982; 17:530-533.
 25. Fernyhough W, Page RC. Attachment, growth and synthesis by human gingival fibroblasts on demineralized or fibronectin-treated normal and diseased tooth roots. *J Periodontol* 1983; 54:133-140.
 26. Terranova VP, Franzetti LC, Hic S, et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: Tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J Periodont Res* 1986; 21:330-337.
 27. Terranova VP, Lyall RM. Chemotaxis of human gingival epithelial cells to laminin. A mechanism for epithelial cell apical migration. *J Periodontol* 1986; 57:311-317.
 28. Terranova VP, Hic S, Franzetti L, Lyall RM, Wikesjo UME. A biochemical approach to periodontal regeneration. AFSCM: Assay for specific cell migration. *J Periodontol* 1987; 58:247-257.
 29. Terranova VP, Franzetti LC, Hic S, Wikesjo

- UME. Biochemically mediated periodontal regeneration. *J Periodont Res* 1987; 22: 248-251.
30. Terranova VP, Wikesjo UME. Chemotaxis of cells from periodontal tissues to different biological response modifiers. *Adv Dent Res* 1988; 2:215-222.
 31. Somerman MJ, Foster RA, Vorsteg GM, Progebin K, Wynn RL. Effects of minocycline on fibroblast attachment and spreading. *J Periodont Res* 1988; 23:154-159.
 32. Terranova VP, Odziemiec C, Tweden KS, Spadone DP. Repopulation of dentin surfaces by periodontal ligament cells and endothelial cells. Effect of basic fibroblast growth factor. *J Periodontol* 1989; 60:293-301.
 33. Tweden KS, Spadone DP, Terranova VP. Neovascularization of surface demineralized dentin. *J Periodontol* 1989; 60:460-466.
 34. Somerman MJ, Foster RA, Imm GM, Sauk JJ, Archer SY. Periodontal ligament cells and gingival fibroblasts respond differently to attachment factors in vitro. *J Periodontol* 1989; 60:73-77.
 35. Terranova VP, Wikesjo UME. Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium. A review. *J Periodontol* 1987; 58:371-380.
 36. Caffesse RG, Holden MJ, Kon S, Nasjleti CE. The effect of citric acid and fibronectin application on healing following surgical treatment of naturally occurring periodontal disease in beagle dogs. *J Clin Periodontol* 1985; 12:578-590.
 37. Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE, Lopatin DE. Cell proliferation after flap surgery, root conditioning and fibronectin application. *J Periodontol* 1987; 58:661-666.
 38. Pini Prato GP, Cortellini P, Clauser C. Fibrin and fibronectin sealing system in a tissue guided regeneration procedure. A case report. *J Periodontol* 1988; 59:679-683.
 39. Cortellini P, DeSanctis M, Pini Prato G, Baldi C, Clauser C. Guided tissue regeneration procedure using a fibrin-fibronectin system in surgically induced recession in dogs. *Int J Periodont Rest Dent* 1991; 11:151-163.
 40. Wikesjo UME, Nilveus R. Periodontal repair in dogs: Healing patterns in large circumferential periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1991; 18:49-59.
 41. Wikesjo UME, Claffey N, Egelberg J. Periodontal repair in dogs. Effect of heparin treatment of the root surface. *J Clin Periodontol* 1991. 18:60-64.
 42. Wikesjo UME, Claffey N, Egelberg J. Periodontal repair in dogs: Effect of saliva contamination of the root surface. *J Periodontol* 1990; 61:559-563.
 43. Wikesjo UME, Nilveus R. Periodontal repair in dogs: Effect of wound stabilization on healing. *J Periodontol* 1990; 61:719-724.
 44. Wikesjo UME, Selvig KA, Zimmerman G, Nilveus R. Periodontal repair in dogs: Healing in experimentally created chronic periodontal defects. *J Periodontol* 1991; 62:258-263.
 45. Vroman L, Adams AL. Identification of rapid changes of plasmasolid interfaces. *J Biomed Mater Res* 1969; 3:43-67.
 46. Wikesjo UME, Crigger M, Nilveus R, Selvig KA. Early healing events at the dentin connective tissue interface. light and transmission electron microscopy observations. *J Periodontol* 1991; 62:5-14.
 47. Wikesjo UME, Nilveus R, Selvig KA. Sig-

- nificance of Early Healing Events on Periodontal Repair. *J Periodontol* 1992; 63: 158-165.
48. Baier RE, Dutton RC. Initial events in interactions of blood with foreign surface. *J Biomed Mater Res* 1969; 3:191-206.
 49. Iglhaut J, Aukhil I, Simpson DM, Johnston MC, Koch G. Progenitor cell kinetics during guided tissue regeneration in experimental periodontal wounds. *J Periodont Res* 1988; 23:107-117.
 50. Aukhil I, Iglhaut J. Periodontal ligament cell kinetics following experimental regenerative procedures. *J Clin Periodontol* 1988; 15:374-382.
 51. Proye MP, Polson AM. Effect of root surface alterations on periodontal healing. I. surgical denudation. *J Clin Periodontol* 1982; 9:428-440.
 52. Polson AM, Proye MP. Fibrin linkage: A precursor for new attachment. *J Periodontol* 1983; 54:141-147.
 53. Hanes PJ, Polson AM, Ladenheim S. Cell and fiber attachment to demineralized dentin from normal root surfaces. *J Periodontol* 1985; 56:752-765.
 54. Polson AM, Ladenheim S, Hanes PJ. Cell and fiber attachment to demineralized dentin from periodontitis-affected root surfaces. *J Periodontol* 1986; 57:235-246.
 55. Frantz B, Polson AM. Tissue interactions with dentin specimens after demineralization using tetracycline. *J Periodontol* 1988; 59: 714-721.
 56. Grotendorst GR, Pencev D, Martin GR, Sodek J. Molecular mediators of tissue repair. biological and clinical aspects. New York Praeger 1984; 20-40.
 57. Shimono M, Inoue T, Yamamura T. Regeneration of periodontal tissues. *Adv Dent Res* 1988; 2:223-227.
 58. Hiatt WH, Stallard RE, Butler ED, Badgett B. Repair following mucoperiosteal flap surgery with full gingival retention. *J Periodontol* 1968; 39:11-16.
 59. Wikesjo UME, Claffey N, Christersson LA, et al. Repair of periodontal furcation defects in beagle dogs following reconstructive surgery including root surface demineralization with tetracycline hydrochloride and topical fibronectin application. *J Clin Periodontol* 1988; 15:73-80.
 60. Lopez NJ. Connective tissue regeneration to periodontally diseased roots, planed and conditioned with citric acid and implanted into the oral mucosa. *J Periodontol* 1984; 55:381-390.
 61. Fialkoff B, and Fry HR. Acid demineralization in periodontal therapy a review of the literature (Abstr.). *J West Soc Periodont* 1982; 30: 52.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig. 1.** 1 hour tetracycline specimen. Note densely packed red blood cells (RBC) and plasma exudate because of bleeding. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 2.** 1 hour fibrin sealants specimen. Note coating (C) with constant thickness and blood clot. A, artificial separation. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 3.** 1 hour control specimen. Electron dense line is shown on dentin (D) surface and exudate is attached to it. Note red blood cell (RBC) and cell debris. Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 4.** 1 hour fibrin sealants treated specimen. Note fibrin sealants (FN) coating. D, Dentin. Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 5.** 6 hours control specimen. Note plasma protein, RBC and polymorphonuclear cells (PMNs). Fibrin network (F) is dispersed. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 6.** 6 hours citric acid treated specimen. Fibrin network (F) is attached to dentin (D) surface. Note many RBCs and PMNs. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 7.** 6 hours fibrin sealants specimen. FN coating on specimen surface. Fibrin network (F) is attached to dentin (D) surface. Note PMNs and RBC. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 8.** 6 hours control specimen. Electron dense line is shown and a little exudate is attached. Fibrin (F) is dispersed. Note cell debris and RBC. D, Dentin. Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 9.** 6 hours fibrin sealants specimen. Fibrin network regarded as artificial fibrin is attached to dentin (D) surface. Note many PMNs and RBC. Physiological fibrin bundle are seen outside of artificial fibrin network. Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 10.** 1 day tetracycline treated specimen. Note many PMNs. Fibrin network (F) is dispersed. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 11.** 1 day citric acid specimen. Fibrin network (F) is attached to specimen surface. Spindle form fibroblast like cell with elliptical form is attached to dentin (D) surface. Note many PMNs and macrophages (M). Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 12.** 1 day fibrin sealants specimen. Note delicate FN coating, fibrin network attachment, many PMNs and macrophages. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 13.** 1 day tetracycline specimen. A small amount of fibrin network (F) is attached to dentin (D) surface. Note many PMNs, RBC, cell debris, and exudates. Transmission electron micrograph (magnification x4000).

- Fig. 14.** 1 day citric acid specimen. PMNs and macrophage-like cells (M) are observed on irregular dentin (D) surface. Note dispersed fibrin bundle, exudate and cell debris. Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 15.** 3 days control specimen. Note fibrin (F), Macrophage, PMNs and a few fibroblasts. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 16.** 3 days citric acid specimen. Abundant fibrin and cell debris are seen. Note active fibroblasts (FB), capillaries, collagen fiber formation, a few PMNs and macrophages. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 17.** 3 days control specimen. Electron dense line on dentin (D) surface and exudate attached to it are shown. Note fibrin network (F), cell debris and red blood cell (RBC). Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 18.** 3 days tetracycline specimen. Fibrin network (arrows) is attached to irregular dentin (D) surface. Note cell debris. Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 19.** 3 days fibrin sealants specimen. Electron dense line on dentin (D) surface and fibronectin coating (FN) are seen as electron dense layer on that. Note cell debris and physiological fibrin network. Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 20.** 1 week control specimen. Many active fibroblasts (FB) are seen and collagen fiber are produced. Note few PMNs, lymphocytes, capillaries and a few macrophages in the fibrous capsule on surface layer. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 21.** 1 week tetracycline specimen. Note fibroblasts (FB), collagen fiber (C) formation interacting with dentin surface, new capillaries and few leukocytes. In outer layer of fibrous capsule, elongated spindle fibroblasts are seen. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 22.** 1 week citric acid specimen. Active fibroblasts (FB) attached to dentin (D) surface. Note collagen fiber (C) formation, macrophages and a few lymphocytes. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 23.** 1 week fibrin sealants specimen. Note fibrous capsule formation, elongated fibroblasts (FB) and a few lymphocytes. A, artificial separation. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 24.** 1 week control specimen. Fibroblast (FB) is attached to dentin (D) surface. Fibrin network is remained. Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 25.** 1 week tetracycline specimen. Active fibroblasts (FB) are attached to dentin (D) surface with well developed RER. Well organized collagen fibers partly show surface attachment. Transmission electron micrograph (magnification x4000).
- Fig. 26.** 1 week citric acid specimen. Note active fibroblasts (FB) on dentin (D) surface with well developed RER and well organized collagen fiber (C). Transmission electron micrograph (magnification x4000).

- Fig. 27.** 2 weeks control specimen. Active fibroblasts (FB) are more elongated compared to 1 week on dentin (D) surface. Collagen fiber (C) formation is abundant in intercellular matrix. Note a few macrophages in the fibrous capsule. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 28.** 2 weeks tetracycline specimen. Fibrous capsule is composed of thinner, more elongated fibroblasts (FB) compared to 1 week. Note a few macrophages and lymphocytes. D, Dentin. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 29.** 2 weeks citric acid specimen. Macrophages and lymphocytes are dispersed on dentin (D) surface. Fibrous capsule is composed of thin elongated active fibroblasts (FB) (collagen fiber formation among cells). A, artificial separation. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 30.** 2 weeks fibrin sealants specimen. Macrophages like cell on dentin (D) surface. Outer layer of fibrous capsule composed of active fibroblasts (FB) is seen. Toluidine blue staining (magnification x400).
- Fig. 31.** 2 weeks citric acid specimen. A few collagen fibers is adhered on dentin (D) surface. Macrophage like cell (M) is revealed. FB, fibroblast. Transmission electron micrograph (magnification x4000).

논문 사진부도 ①

EARLY CONNECTIVE TISSUE ATTACHMENT ON DENTIN SURFACE TREATED WITH CITRIC ACID, TETRACYCLINE AND FIBRIN SEALANTS

Hea-Ja Lee, Soo-Boo Han, Jae-Sung Ko*

Department of Periodontology, Oral Anatomy and Dental Research Institute,
College of Dentistry, Seoul National University*

The purpose of this study was to observe early connective tissue attachment on dentin surface treated with citric acid, tetracycline, and fibrin sealants and compare their conditioning effects on dentin surface.

Experimental dentin blocks conditioned with citric acid, tetracycline or fibrin sealant, and only root planned control block were surgically implanted in the pouch under buccal mucoperiosteal flaps of left mandible, right maxilla, left maxilla, right mandible of 18 male rabbits.

Rabbits were sacrificed after 1 and 6 hours, 1, 3, 7 and 14 days after implantation and then specimens including dentin block and surrounding soft tissue were obtained, and prepared for light and transmission electron microscopic examination.

1 and 6 hours after dentin block implantation, there was plasma proteins adsorption followed by fibrin clot formation and no differences among specimens. At the 1-day observation interval, delicate fibrin network was observed in the all groups, and there were proliferative fibroblasts, angiogenesis and macrophage in the all 3-day specimens. Cellular aggregates and abundant connective tissue adhered dentin surface and tetracycline or citric acid treated group showed much proliferative fibroblast and abundant collagen fibers at 1 week. But at 2 week, citric acid treated group showed much proliferative fibroblast and abundant collagen fibers.

These observations suggested that new connective tissue attachment to dentin was initiated by the adsorption of plasma proteins to the dentin surface and followed by fibrin clot formation. Tetracycline and citric acid seemed to make dentin surface more biologically favorable for the connective tissue attachment.