

백서에서 인간 탈회동결건조골 수화시간에 따른 초기 골치유

김상렬 · 김수관 · 장현선* · 조세인

조선대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, 조선대학교 치과대학 치주학교실*,

조선대학교 치과대학 구강생물학연구소

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2002;28:188-195)

EFFECT OF HYDRATION TIME OF DEMINERALIZED FREEZE-DRIED BONE ON EARLY BONE REGENERATION IN OSSEOUS DEFECTS IN RATS

Sang-Ryul Kim, Su-Gwan Kim, Hyun-Seon Jang*, Se-In Cho

Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Dept. of Periodontology,*

Oral Biology Research Institute, College of Dentistry, Chosun University

The purpose of this investigation was to evaluate the relationship between the hydration time of demineralized freeze-dried bone (DFDB) and early new bone formation in rat calvarial defects filled with DFDB.

Rats (n = 43) were divided into 4 experimental groups. Standard, transosseous circular defects of the calvaria were made midparietally. In experimental group 1, the defect was grafted immediately after soaking the DFDB. In experimental group 2, the defects were grafted with DFDB after soaking the DFDB for 10 minutes. In experimental groups 3 and 4, the defects were filled after soaking the DFDB for 30 and 60 minutes, respectively. Graft sites were analyzed histologically after healing periods of 1, 2, or 4 weeks. Each group showed similar bone regeneration at each time point by histological analysis.

The results of this study were as follows:

1. After 1 week, a significant amount of inflammation, granulation tissue, and edema were found. A small amount of bone was seen, but the amount of bone did not differ between groups.
2. After 2 weeks, a small amount of new bone formation and DFDB resorption were observed.
3. After 4 weeks, a greater amount of new bone formation was observed. The greatest amount of bone formation occurred in experimental group 4 after 4 weeks.

We conclude that the hydration time of DFDB does not affect new bone formation and that it is very important to control inflammation in bone grafting.

I. 서 론

구강악안면 영역에서 발생한 낭종, 골절, 종양 등의 재건과 악교정 외과술 그리고 임플란트 매식시 골결손부에 대한 골이식의 필요성은 더욱 증가하고 있으며, 이러한 골결손 부위의 회복을 위하여 자가골, 동종골, 이종골, 인공이식재료 등이 이용되고 있

다¹⁾. Alberius 등²⁾, Linde 등³⁾은 신선자가골을 이식하는 경우 가장 좋은 임상적 효과를 얻을 수 있으나, 부가적인 공여부의 채취수술, 골 채취량의 제한, 이식편이 시간이 지남에 따라 흡수되는 경향이 있는 단점이 있다고 하였다. 최근 조직저장술의 발달로 말미암아 탈회동결건조 처리한 동종골이 임상에 많이 쓰이고 있다.

DFDB(demineralized freeze-dried bone)는 건강한 제공자로부터 피질 및 소주의 골을 채취하여 살균의 과정을 거친 후, 에탄올에 담구어 질소에서 얼린후, 동결건조시키고 진척된 골형성으로 보이는 더 작은 조각인 250~750 μ m로 분쇄한다⁴⁾. 건조 과정은 장기간의 저장과 항원성의 감소가 요구된다. 그래서 칼슘과 인의 염이 남기 때문에 무기적 및 유기적 기질은 유지되게 된다. 이후 6~16시간 정도 0.6N의 염산이나 질산을 이용하여 뿔가루에서 탈회하는 추가과정을 거쳐 만들어진다. 인산화 칼슘염은 산-환

김 수 관

501-825, 광주광역시 동구 서석동 421번지
조선대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Su-Gwan Kim

Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Chosun University
421 Sosoegdong, Dong-Ku, Kwangju, 501-825, Korea

Tel: 82-62-220-3810 Fax: 82-62-224-9172

E-mail: sgckim@chosun.ac.kr

※ 이 논문은 21세기 지식기반사회대비 고등인력사업 Brain Korea 21 연구비에 의하여 연구되었음.

원 반응에서 뼈로부터 제거되고, 탈회화는 더욱 쉽게 골형성단백질(BMP)을 방출한다. 세척과 탈수산화 과정 후 항원성을 더 감소시키기 위해 X-ray를 조사하거나 산화에틸렌(EO)에서 살균시킨다. 또한 골대체물질로서, 수산화인회석(hydroxyapatite)⁶⁹, 치아회분¹¹⁰, 생활성 유리(bioactive glass)¹¹¹ 등이 사용되고 있으나 재료자체의 독성, 불량한 국소반응, 원하는 만큼의 골조직재생이 일어나지 않는다는 점의 한계를 보였다.

본 연구에서는 수화시간을 달리하여 이식함으로써 골치유 양상과 신생골 형성정도를 분석, 비교하여 임상 응용시 효과적인 수화시간을 규격화함으로써 환자의 치유를 호전시키고, 나아가 동일 수화시간, 동일 이식재를 사용하여 환자의 연령이나 전신적인 건강 등과의 이식효과를 분석하는 데도 응용함으로써 이식수술시 예후 판정에 도움이 되고자 한다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료 (Table 1)

체중 200~300g내외의 건강한 Sprague-Dawley계 백서 48마리를 사용하였으나, 실험 도중에 5마리가 사망하여 총 43마리를 사용하였다. 실험 1군 (n=10), 실험 2군 (n=10), 실험 3군 (n=11), 실험 4군 (n=12)으로 분류하였으며 동일한 조건 아래서 사육하였다.

실험 1군은 식염수에 DFDB를 담근 후 골 결손부에 바로 이식하였으며, 결손부 상방의 골막을 당겨 봉합하였다. 실험 2군은 식염수에 DFDB를 10분간 수화시킨 후 골 결손부에 이식하였으며 조심스럽게 상부 골막을 당겨 봉합한 후 두피를 재위치시켰다. 실험 3군은 인간의 DFDB를 30분간 수화시킨 후 비교적 균일한 두께로 결손부위에 이식하고 골막을 당겨 봉합하였으며, 실험 4군은 골결손부에 DFDB를 식염수에 1시간 동안 수화시킨 후 비교적 균일한 두께로 이식하고 골막을 당겨 봉합하였다 (Table 1).

골결손부의 이식재료는 인간의 탈회동결건조골(Dembone®, particle size 250~500µm, Pacific coast tissue bank, USA)을 사용하였다.

2. 실험 방법

(1) 수술

Ketalar® (10mg/kg, 유한양행)와 Rompun® (0.3mg/kg, 한국바이엘주식회사)을 근육주사하여 마취하였다.

백서 두개부 피부를 삭모하고 소독한 다음 2% lidocaine solution으로 국소마취하였다. 백서 두개 정중부에 골에 닿도록 2 cm

가량의 절개를 전두부에서 후두개쪽 방향으로 가한 후 피하조직을 박리하고 골막과 같이 양측으로 거상하여 두개골을 노출시켰다. 뇌경막과 두개 정중부를 지나는 혈관의 손상을 주의하면서 치과용 저속드릴로 백서 두개골의 임계 결손크기(critical size defect)인 지름 8mm 크기¹¹²의 두개전층부 결손부를 만들었으며, 결손부를 형성할 때 과도한 열이 나지 않도록 간헐적으로 생리식염수 세척을 동시에 시행하였다. 수술 후 감염을 방지하기 위하여 동물용 Gentamycin® (5mg/kg, 녹십자)을 5일간 근육주사하였다.

(2) 조직표본 제작 및 관찰

수술받은 동물은 각 1, 2, 4주 경과 후에 각 군별로 수술시와 동일한 마취를 시행한 다음 경추 탈골하여 희생시켰다. 골결손부와 상방 골막 및 두피와 인접 건전골을 포함시켜 절제하여 (en block), 10% neutral-buffered formalin에 고정시키고, Nitric acid(DeCal Rapid®, Pational Diagnosis, Atlanta, USA)에 담귀 4시간 탈회한 후, 골결손부의 최대 장축과 수직되게 3mm 두께의 절편을 3군데 연속적으로 취하여 수세한 후 자동조직가공기(Hypercenter XP, Shandon UK)를 이용하여 조직처리하여 파라핀에 포매하였다. 파라핀 블록을 4~5µm 두께의 박절편을 만들어 유리슬라이드에 올린 후 68°C 열판에 1시간 이상 방치시킨 후 염색을 시행하였다. 염색은 Hematoxylin - Eosin 염색을 시행하여 광학현미경으로 조직학적 소견을 관찰하였다.

III. 실험 결과 (Table 2)

가. 실험 1군

1) 1주 소견

골결손부 내부에 염증세포의 침윤, 다양한 정도의 부종 및 약간의 출혈양상을 보이고 있었으며, 많은 육아조직이 생성되어 있었다. DFDB는 골형성을 보이지 않았으며, 미약하게나마 주변으로 골아세포와 유사한 세포(osteoblast-like cell)들이 보였다. 변연부에 미약하게 한정된 골 형성을 보였다 (Fig. 1).

2) 2주 소견

염증소견은 많이 감소된 소견을 보였으나, 다량의 출혈 소견이 보였고 중등도의 육아조직 및 조직 부종양상을 보였다. 골형성은 여전히 나타나지 않았고, 골아세포와 유사한 세포들이 약간씩 나타났으며, DFDB가 흡수되는 소견을 보였다. 변연부의 골형성정도는 1주보다는 많이 증가되어 나타났다 (Fig. 2).

3) 4주 소견

모든 실험동물에서 염증소견은 거의 보이지 않았으나, 다량의 출혈 소견을 보였다. 골결손부 중심에서는 염증이 많이 감소하면서 DFDB 주변에 소성 결체조직의 형성을 보였다. 그에 따라 골형성과 골아세포와 유사한 세포들이 증가하였고 일부에서는 DFDB의 흡수와 융합 소견을 보였다. 변연부의 골형성도 매우 증가한 소견을 보였다 (Fig. 3).

Table 1. Experimental design

Group	1			2			3			4		
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
Total No. of specimen	3	4	3	2	4	4	3	4	4	4	4	4

Table 2. Summary of Histologic Findings

Histology	Group		1			2			3			4		
	Weeks		1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
Bone formation			-	-	+	-	+	++	-	±	++	-	+	+++
Resorption of materials			-	+	++	-	-	++	+	+	++	-	+	+++
Inflammation			+++	++	±	++	++	+	++	++	+	+++	++	+

Note. - = not present; ± = partially present; + = slightly present; ++ = moderate present; +++ = severe present

나. 실험 2군

1) 1주 소견

골 결손 변연부에만 골 형성 소견을 보였으며, 골결손부 내부에는 출혈성향으로 인한 약간의 혈병이 존재하였고 결손부 내부는 소성 결체조직으로 채워져 있었다. 중등도의 염증 및 약간의 육아조직과 조직 부종이 보였다. DFDB 주변에는 골아세포와 유사한 세포들이 약간씩 관찰되었으며, 일부에서 골세포(osteocyte)가 한 두개 관찰되는 소견을 보였다 (Fig. 4).

2) 2주 소견

염증은 1주와 비슷한 소견을 보였으며, 출혈은 많이 감소되었으나, 결손부 내부는 여전히 육아조직 및 소성 결체조직으로 채워져 있었다. DFDB 주변에는 골아세포와 유사한 세포들이 약간씩 관찰되고 있으며 약간의 골형성이 나타나는 소견을 보였다. 변연부에서는 골형성 소견이 보였다 (Fig. 5).

3) 4주 소견

골결손부 변연에서는 신생골 형성양상이 상당히 진행되고 있었으며, DFDB 주변에는 골아세포와 유사한 세포들이 상당히 나타나 있었으며, 일부에서는 골세포가 관찰되었고 2주보다 증가되어 보였다. 2주보다 증가된 골세포들이 보였으며, DFDB의 흡수소견을 보였다. 염증 및 출혈 소견은 많이 감소하였고 소성 결체조직으로 채워져 보였고 일부에서는 봉합사 사용한 봉합사가 관찰되었다 (Fig. 6).

다. 실험 3군

1) 1주 소견

염증세포의 침윤과 출혈 소견이 다량 있었고 대조군과 비슷한 양상을 나타냈으며, 육아조직 형성이 두드러져 보였다. DFDB 주변에는 신생골 형성이 관찰되지 않았으며 일부에서는 DFDB의 흡수가 관찰되었다. 변연부에 소량의 신생골 형성이 관찰되는 소견을 보였다 (Fig. 7).

2) 2주 소견

1주와 비교하여 염증세포의 침윤이 감소되었으며, 출혈소견은 오히려 증가된 소견을 보였다. 육아조직과 부종 소견보다는 전반적으로 결체조직화되는 소견을 보였다. DFDB에서 미약하게나마 골형성이 나타나고 있으며, DFDB의 흡수소견을 보였다. 골

결손부 변연에서 골아세포에 의한 신생골주의 형성이 보이기 시작하였고, 변연부에서 내부 쪽으로 자라 들어가는 신생골주를 확인할 수 있었다. 골 결손부와 접한 DFDB에서는 보다 뚜렷한 골형성 소견을 보였다 (Fig. 8).

3) 4주 소견

골결손부 변연에서 신생골주가 중심부 쪽으로 2주 소견보다 상당히 더 증식해 들어가고 있었으며 이식골에 골아세포의 침윤과 활성화가 더 눈에 띄게 보였다. 이러한 변화를 보이는 이식골편들은 뚜렷한 윤곽을 갖는 이전의 모습과는 대조적으로 골편의 가장자리가 경계가 흐려지고 골아세포의 내성장으로 일종의 기질화(organization)를 보이고 있었다. 중심부쪽에 형성된 이식골편의 신생골형성은 인접골편들과 현저한 골유합(bony fusion)을 보이며 일부 신생골주에서는 골수(bone marrow)형성도 보였다 (Fig. 9).

라. 실험 4군

1) 1주 소견

이식골편 사이에는 육아조직이 채워져 있었고 출혈성향과 다량의 염증소견을 보였으며, 조직의 부종이 관찰되었다. 골결손부 변연에 소량의 골형성이 시작되고 있었다. 탈DFDB 주변에는 간혹 골아세포와 유사한 세포들이 나타났으며, 골형성은 나타나지 않았다 (Fig. 10).

2) 2주 소견

염증세포의 침윤은 1주보다 많이 감소하였으나, 여전히 많은 양상을 보였다. 조직의 부종은 관찰되지 않았고, DFDB는 일부에서 흡수 소견을 보였다. 일부에서는 골세포도 관찰되는 소견을 보였다. 골변연부의 골형성과 이식골 사이의 간질조직에서의 신생골 형성을 확인할 수 있었다 (Fig. 11).

3) 4주 소견

염증소견은 2주에 비해 미약하게 남아 있었다. 전반적으로 결체조직이 관찰되는 소견을 보였다. 이식된 DFDB에서는 두드러지게 골형성이 관찰되었고, 변연부의 골세포들도 다른 군에 비해 증가하였다. 또한 DFDB는 골을 형성하면서 서로 융합되는 소견을 보였다 (Fig. 12).

IV. 총괄 및 고안

구강악안면 영역에서 외상이나 낭종 및 치근단 병소에 의해 야기된 골결손부의 치료시 부적절한 골의 치유나 신생골이 형성되지 않는 경우 임상적으로 중요한 문제가 된다. Dahlin 등¹³⁾과 Linde 등⁴⁾은 골결손부를 그대로 방치할 경우, 결체조직의 형성이 골생성 작용보다 더 빨리 일어나 골결손부를 채우게 되며 이 연조직에 의해 골생성이 방해받게 되며 그 결과 해부학적인 변형, 이차적 감염 및 기능적 장애를 일으켜 결국은 2차 수술이 필요하게 된다고 하였다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 Alberius 등³⁾, Burchardt 등¹⁰⁾, Dahlin 등¹³⁾, Linde 등⁴⁾은 신선자가골을 이식하는 것이 가장 임상적으로 좋은 결과를 얻을 수 있으나 자가골 이식은 공여부의 이차적인 수술이 필요하고, 시간에 따른 이식편이 흡수가 되는 단점이 있어 면역 처리한 동종골 이식을 추천한 바 있으며, 상표화된 골세편이나 골분(bone powder), 수산화인회석^{7,15)}과 같은 종류의 생체적합성 합성물질을 이식하는 경우를 생각할 수 있는데 이런 경우 재료자체의 독성, 불량한 국소반응, 불안정한 고정, 이식재료가 수동적 골격체로만 작용하며 숙주골과 유착(incorporation)하지 않는 한계점이 있다고 하였다. 또한 Urist¹⁶⁾은 탈회동결건조골을 제작하는 과정에서 발견된 골형성능력이 우수한 물질을 발견하였는데 이를 골형성 단백질(bone morphogenetic protein; BMP)이라 명명하였다.

BMP는 Urist¹⁶⁾가 공유도에 의한 골형성을 보고한 이래로 Bauer 등은 인간의 골육중세포주로부터 BMP를 분리하였음을 보고하였다¹⁷⁾. BMP는 정제시키고 영양변식된 15개 단백질(BMP-1~15)을 재편성하는 집합적인 용어를 나타내며, 오늘날에는 단백질 염기서열을 완전히 해독함으로써 15종에 이르는 골형성 단백질 유전자 암호를 밝혀낸 상태이다¹⁸⁾. 조합형 인간 BMP-2 (rhBMP-2)와 다른 것들이 생산되고 있고 큰 결손부에서도 짧은 시간 내에 연골내 골화의 완전한 과정을 유도한다고 보여진다^{18,19)}. 주된 장점은 사체의 뼈로부터 분리한 BMP는 1kg당 단지 0.1mg 정도 산출된다는 것이다. BMP는 골형성과 관계없는 부분에 작용하는 단백질들도 보고되고 있지만 생체에서 주로 골형성유도를 담당하고 있다.

실험군에서 사용된 백서 두개골의 골결손의 크기는 Schmitz 등²⁰⁾이 말한 critical size defect인 직경 8mm로 사용하였다. 본 실험 1주 군에서 골결손 변연부에 미약한 신생골 형성이 관찰되었지만, 골결손부는 전반적으로 결체조직으로 채워져 있고 비골화되어 있는 모습을 보였다. 이러한 관찰은 Dahlin 등¹³⁾, Schmitz 등⁹⁾이 말한 소견과 일치하였다. Landsberg 등²¹⁾은 인간의 치조골 결손부에 DFDB를 이식하여 6개월 관찰하여 유의성 있는 신생골형성을 얻은 바 있다. 그들은 부가적인 수술이 필요한 자가골 대신 DFDB 이식이 유용함을 주장하였다. DFDB는 골을 탈회시키는 과정 중에 골기질에서 골을 형성시키는 단백질(bone morphogenetic protein, BMP)이 유리되어 골을 형성시킨다는 사실이 입증되어 임상에서 자가골 이식 대신으로 많이 사용되고 있다^{16,22-24)}. DFDB에 의한 골유도(osteinduction)과정은 하나의 사체(cadaver)에서부터 또 다른 하나의 사체까지 다양하다. 일반적으로 어린 사체에서

더 많은 BMP가 있다²⁵⁾. 탈회된 광물 피질(mineral cortex)은 해면골보다 더 높은 BMP의 농출을 포함하며, 치과수술에서 추천된다²⁶⁾. 또한 막성골은 연골내의 골보다 BMP의 농축정도가 더 크고, 두개골은 골격의 잔여보다 더 좋은 유도 단백질원이 나타난다.

또한 이식골은 혈관과 섬유조직의 성장을 유도하는“creeping substitution”효과가 나타나 골의 증식과 안정성에 기여한다고 하였다^{8,12,24)}. Becker 등²⁷⁾은 시판되는 인간의 DFDB를 nude마우스(nude mice)에 이식한 후 21일된 조직조건에서 골형성능력이 없음을 보고하여 임상에 사용하기에 문제가 된다고 하였다. Schwartz 등²⁸⁾의 실험에서는 비교적 장기간(60일) 관찰시는 충분한 양의 신생골 형성능력이 있음을 보고하였다. 본 실험 각군의 1주 소견에서 골유도에 의하여 이식골 변연에 골아세포와 유사한 세포의 침착과 활성이 관찰되었으며, 2주 소견에서는 이식골 변연의 골아세포에 의한 신생골 형성과 결손부 변연부에서의 신생골 형성이 증가되고 있었으며 또한 이식골 사이에서 일부 연골세포에 의한 연골양 조직도 관찰되었다. 4주에서는 신생골들이 직접 주위 이식골과 융합하는 소견을 보였고 또한 좀 더 골성 융합이 현저하고 일부는 골의 재생(remodeling)도 일어나고 있었다. 이러한 소견은 Reynolds 등²⁹⁾의 관찰과 동일하였다. 실험 4군은 3군과 비슷한 조직조건을 보이지만 실험 4군의 4주 소견에서 실험 3군에 비해 골결손부 중앙부위에서 이식재 사이가 더 긴밀히 접촉하면서 골성융합을 이루고 있어, Brugnami 등¹⁵⁾이 차단막을 사용하면 이식재가 섬유성결체조직으로 피복되는 것을 방지하여 골아세포에 의한 신생골주 형성을 유도할 수 있다고 말한 것과 같은 소견을 보였다.

또한 실험 3군 4주 소견에서는 DFDB내에 연골아세포와 유사한 골세포(chondroblast-like osteocyte)가 관찰되었는데, 이는 이식골의 BMP에 의한 골형성 전단계인 연골내골화의 소견으로 사료된다.

본 연구의 실험중 특히할만한 점은 실험 4군 4주 소견에서 다른군과 비교되게 골형성이 증가되어 관찰되는데, 이는 골결손부 변연에서 형성된 신생골과 결손부에 인접한 DFDB에서 생성된 골이 서로 융합되어 나타난 결과로 보인다. 또한 시간이 경과할수록 염증이 감소되어 나타났으며, 이는 염증과 골생성간에 서로 상관관계가 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

체중 200g~300g 내외의 건강한 Sprague-Dawley계 백서를 사용하였으며, 동일한 조건하에서 사육하였다. 두개골 결손부 신생골 형성능력을 비교하기 위해 골결손부에 DFDB를 식염수에 담근 즉시 이식한 경우를 실험 1군으로, DFDB를 10분간 식염수에 수화시킨 후 이식한 경우를 실험 2군, DFDB를 30분간 식염수에 수화시킨 후 이식한 경우를 실험 3군, 골결손부에 DFDB를 1시간 동안 수화시킨 후 이식한 경우를 실험 4군으로 하고 1주, 2주, 4주째 희생한 후 광학현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과들을 얻었다.

1. 실험 1주에서는 모든 군에서 염증반응이 심하게 나타났으며, 신생골 형성은 거의 없거나 아주 미약한 소견을 보였다.
2. 2주에서는 약간의 골형성 소견이 보였고, DFDB의 흡수가 관찰되었다.
3. 4주에서는 매우 증가된 골형성 소견이 보였다. 특히 4주 4군에서 가장 증가된 골형성 소견이 보였다.

위의 연구결과에서 보여준 바와같이 DFDB의 수화시간은 초기 골 치유에 특별한 영향을 미치지 못하는 듯하였다. 다른 군과는 대조적으로 실험 4주 4군에서 골형성이 가장 좋게 나타났는데, 이는 DFDB가 골결손부 변연에 인접해 있어 변연부에서 골형성이 DFDB의 골형성과 융합됐다고 추측된다. 또한 염증 증상이 매우 적어 다른 군의 4주와 비교시 뛰어난 골 생성력을 보여 주었다.

참고문헌

1. Kim SG, Yeo HH, Kim YK : Grafting of large defects of the jaws with a particulate dentin-plaster of paris combination. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 88:22-25, 1999.
2. 김수관 : 악골에 발생하는 낭종. 제1판. 조선대학교 출판부, 1999, p.145-172.
3. Alberius P, Dahlin C, Linde A : Role of osteopromotion in experimental bone grafting to the skull: a study in adult rats using a membrane technique. *J Oral Maxillofac Surg* 50:829-834, 1992.
4. Linde A, Alberius P, Dahlin C, Bjurstram K, Sundin Y : Osteopromotion: a soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. *J Periodontol* 64:1116-1128, 1993.
5. Melloning JT, Levey R : The effect of different sizes of freeze dried bone allograft on bone growth. *J Dent Res* 63:222, 1984.
6. 박문성, 류선열 : 골결손부의 신생골 형성에 미치는 흡수성, 비흡수성 및 우골유도 수산화인회석의 영향. *대한구강악안면외과학회지* 22:561-574, 1996.
7. 정승룡, 류선열, 김선현 : 발치와의 신생골형성에 미치는 탈회동결 건조골과 흡수성 수산화인회석의 영향. *대한구강악안면외과학회지* 17:239-252, 1995.
8. Bowen JA, Mellonig JT, Gray JL, Towle HT : Comparison of decalcified freeze-dried bone allograft and porous particulate hydroxyapatite in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 60:647-654, 1989.
9. Schmitz JP, Schwartz Z, Hollinger JO, Boyan BD : Characterization of rat calvarial nonunion defects. *Acta Anat (Basel)* 138:185-192, 1990.
10. 김영균 : 치아회분말과 치과용 연석고의 혼합매식과 동결건조경막을 이용한 조직유도 재생술에 관한 실험적 연구. *대한구강악안면외과학회지* 22:297-306, 1996.
11. 민승기, 이동근, 업인웅 : 냉동건조탈회동결골과 Bioglass의 골형성

- 에 관한 실험적 연구. *대한구강악안면외과학회지* 17:137-149, 1995.
12. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE : *Tissue engineering*: Quintessence Publishing Company, 1999, pp. 103-110.
13. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S : Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 81:672-676, 1988.
14. Burchardt H : The biology of bone graft repair. *Clin Orthop* 174:28-42, 1983.
15. Brugnami F, Then PR, Moroi H, Leone CW : Histologic evaluation of human extraction sockets treated with demineralized freeze-dried bone allograft (DFDBA) and cell occlusive membrane. *J Periodontol* 67:821-825, 1996.
16. Urist MR : Bone: formation by autoinduction. *Science* 150:893-899, 1965.
17. Anderson HC, Hsu HH, Raval P, Hunt TR, Schwappach JR, Morris DC, Schneider DJ : The mechanism of bone induction and bone healing by human osteosarcoma cell extracts. *Clin Orthop* 313:129-134, 1995.
18. Wang EA, Rosen V, D' Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T, Israel DI, Hewick RM, Kerns KM, LaPan P, et al. Related Articles, OMIM : Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87:2220-2224, 1990.
19. Toriumi DM, Kotler HS, Luxenberg DP, et al : Mandibular reconstruction with a recombinant bone-inducing factor. *Arch Orthop Scand* 63:619-622, 1992.
20. Schmitz JP, Hollinger JO : The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop* 205:299-308, 1986.
21. Landsberg CJ, Grosskopf A, Weinreb M : Clinical and biologic observation of demineralized freeze-dried bone allografts in augmentation procedures around dental implants. *Int J Maxillofac Implants* 9:586-592, 1994.
22. Reynolds MA, Bowers GM : Fate of demineralized freeze-dried bone allografts in human intrabony defects. *J Periodontol* 67:150-157, 1996.
23. Schwartz Z, Mellonig JT, Carnes DL Jr, de la Fontaine J, Cochran DL, Dean DD, Boyan BD : Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. *J Periodontol* 67:918-926, 1996.
24. Shigeyama Y, D' Errico JA, Stone R, Somerman MJ. : Commercially-prepared allograft material has biological activity in vitro. *J Periodontol.* 66:478-487, 1995.
25. Inoue K, et al : Effect of aging on bone formation in porous HA, *World Biomaterials Congress*, Berlin, 1972.
26. Misch CE, Dietsch F : Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent* 2:158-167, 1993.
27. Becker W, Urist MR, Tucker LM, Becker BE, Ochsenbein C : Human demineralized freeze-dried bone: inadequate induced bone formation in athymic mice. A preliminary report. *J Periodontol* 66:822-828, 1995.

사진부도 설명

- Fig. 1. Photomicrograph of experimental group on the 1 week after experiment (H-E stain, $\times 200$). Minimal new bone formation was observed adjacent to the defect margin and heavy inflammatory cells infiltration with edema was seen.
- Fig. 2. Photomicrograph of experimental group 1 on the 2 weeks after experiment (H-E stain, $\times 200$). Small amount of new bone formation was observed adjacent to the defect margin and no new bone formation was seen.
- Fig. 3. Photomicrograph of experimental group 1 on the 4 weeks after experiment (H-E stain, $\times 200$). Small amount of new bone formation was observed and DFDB resorption and fusion were seen (arrow : osteocyte).
- Fig. 4. Photomicrograph of experimental group 2 on the 1 week after experiment (H-E stain, $\times 200$). A few osteocyte (arrow) was observed.
- Fig. 5. Photomicrograph of experimental group 2 on the 2 weeks after experiment (H-E stain, $\times 200$). Minimal amount of new bone formation was observed (arrow : osteocyte).
- Fig. 6. Photomicrograph of experimental group 2 on the 4 weeks after experiment (H-E stain, $\times 200$). Osteocytes (arrow) and new bone formation were increased. DFDB was resorbed. Bone formation adjacent to the defect margin was more increased than the 1 and 2 weeks.
- Fig. 7. Photomicrograph of experimental group 3 on the 1 week after experiment (H-E stain, $\times 200$). DFDB particles were resorbed and seen in variable sizes and irregular shapes. No new bone formation was observed.
- Fig. 8. Photomicrograph of experimental group 3 on the 2 weeks after experiment (H-E stain, $\times 200$). Connective tissues was seen and DFDB particles was resorbed. New bone formation was to be feeble (arrow : osteocyte).
- Fig. 9. Photomicrograph of experimental group 3 on the 4 weeks after experiment (H-E stain, $\times 200$). New bone formation adjacent to the DFDB particles with fusion was noted. Also, in periphery of the defect margin, marked new bone formation was observed (arrow : osteocyte).
- Fig. 10. Photomicrograph of experimental group 4 on the 1 weeks after experiment (H-E stain, $\times 100$). Heavy inflammatory cells infiltration with edema was seen. No new bone formation was observed.
- Fig. 11. Photomicrograph of experimental group 4 on the 2 weeks after experiment (H-E stain, $\times 200$). DFDB particles were resorbed and a few osteocytes was observed.
- Fig. 12. Photomicrograph of experimental group 4 on the 4 weeks after experiment (H-E stain, $\times 200$). Anastomosing new bone formation and fusion with organizing DFDB particles was markly noted (arrow : osteocyte).

사진부도 ①

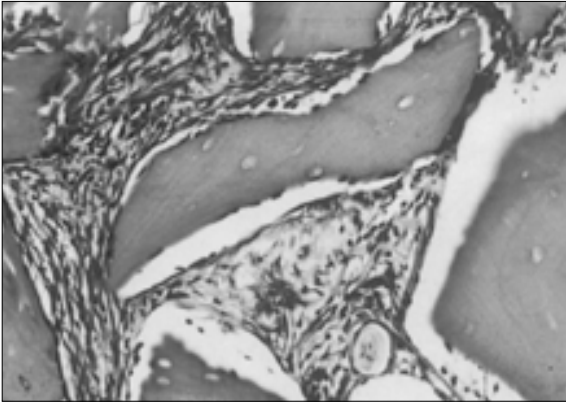


Fig. 1

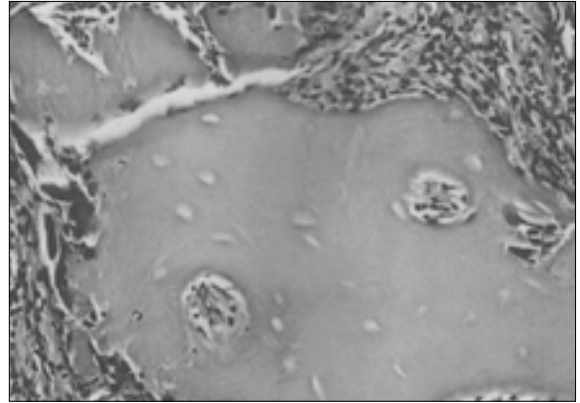


Fig. 2

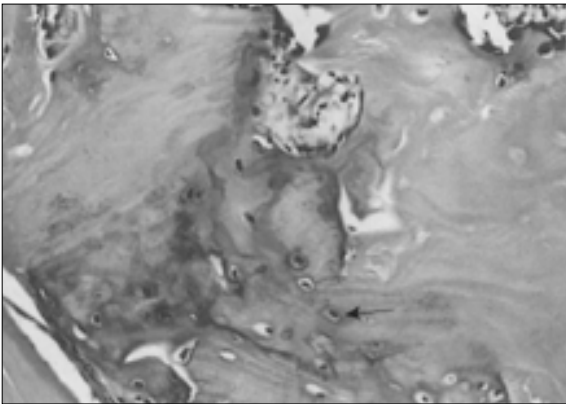


Fig. 3

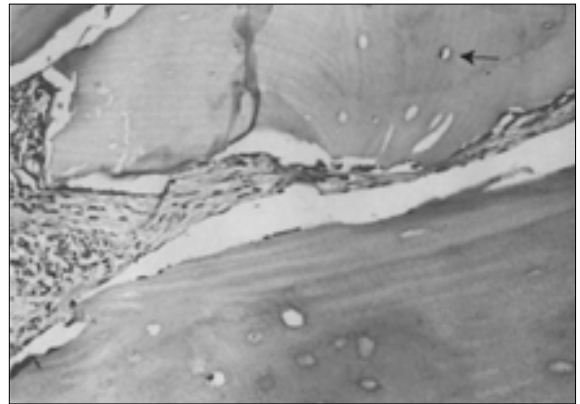


Fig. 4

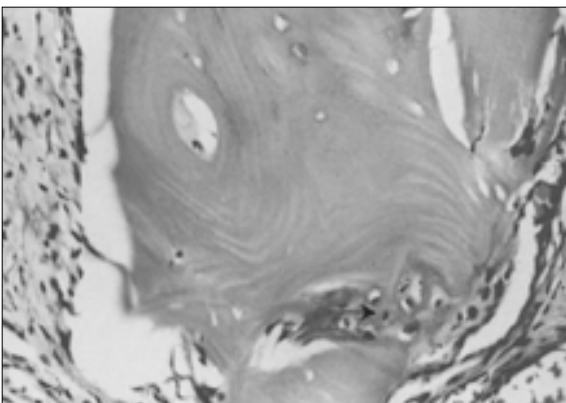


Fig. 5

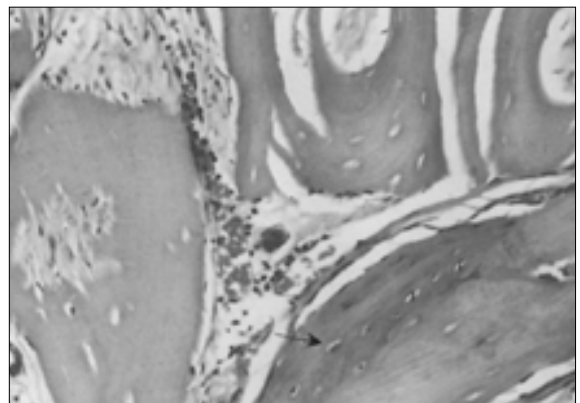


Fig. 6

사진부도 ②

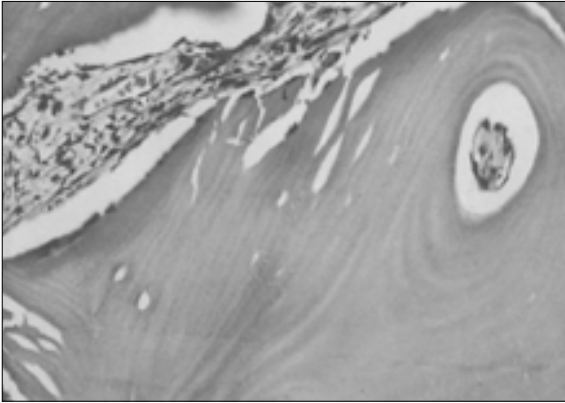


Fig. 7

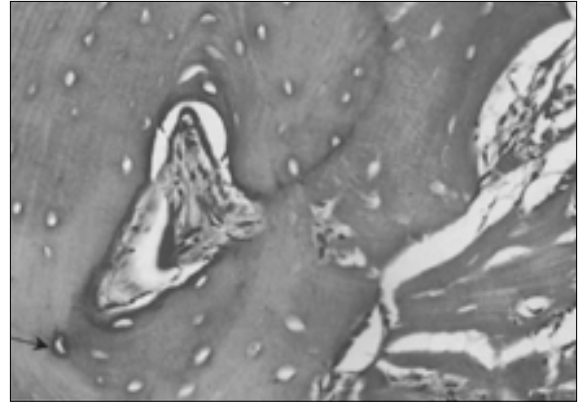


Fig. 8

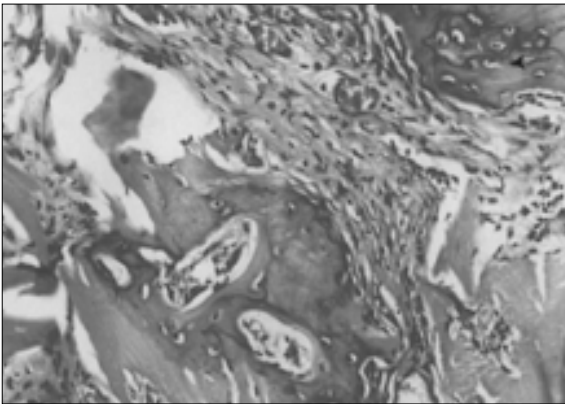


Fig. 9

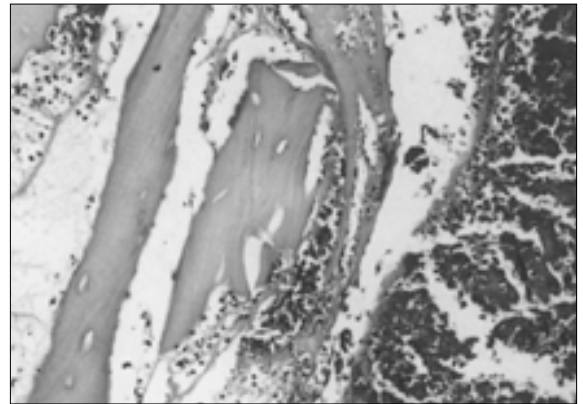


Fig. 10

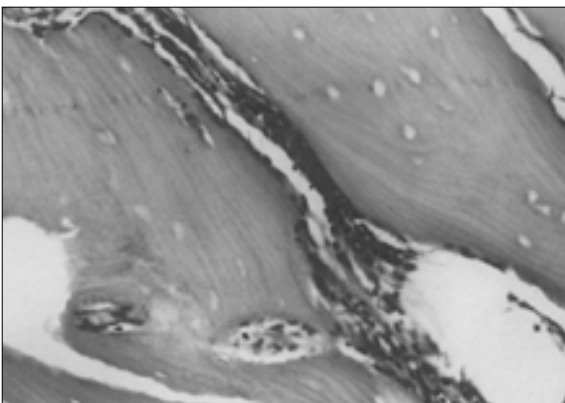


Fig. 11

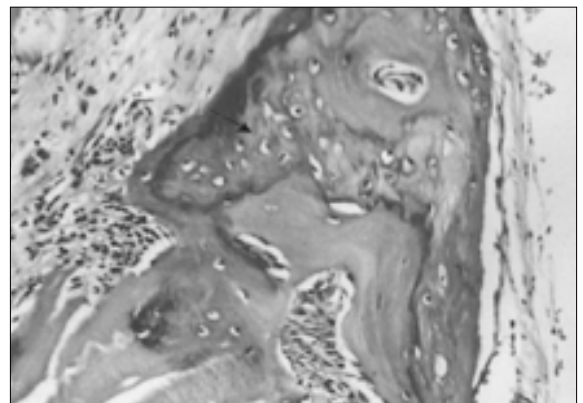


Fig. 12