

백서 두개부 결손부에 이식된 이종골 치유과정에 히알루론산이 미치는 영향에 관한 연구

조이수 · 민승기

원광대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2002;28:205-215)

THE EFFECT OF HYALURONIC ACID ON XENOGRAFT IN RAT CALVARIAL DEFECT

I-Su Jo, Seung-Ki Min

Department of Oral Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Won-kwang University

The purpose of this study was to evaluate the tissue response in various bone grafting materials, especially xenogenous bone materials *in vivo*, compare of bone formation capacity of various bone grafting materials on rat skull defects and evaluate the effect of Hyaluronic acid on healing of human Demineralized Freezed Dried Bone allogeneous graft (DFDBA) materials in rat calvarial defects.

30 Sprague-Dawly rats were divided into 4 groups. 7×7 mm size bony defect were artificially prepared in the calvaria (both parietal bone) of all 30 rats and follwed group grafting of autogenous bone graft on right side and allogenic DFDBA on left side bone graft (rat DFDB) in 15 control group, but in 15 experimental group, xenograft (human DFDB) on left side, hyaluronic acid treated with xenograft on right side.

Sequential sacrifices was performed at 1, 2, 4, 6, 8 weeks of experiment. These specimens were stained with H&E and MT stain, and then histologic analysis under light microscope was carried out.

There were inflammatory reaction in all graft material during early stage. Autogenous and Allogeneous DFDBA graft group observed inflammatory reaction at 1 week. Xenograft group persistant inflammatory reaction until 4 weeks, but in HA treated xenograft group inflammatory reaction was decreased at 2 weeks. Osteoblastic activity in control group was begun at 2 week, xenograft group was delayed at 6 weeks, however HA treated xenograft group was begun at 4 weeks.

At 2 week, mild osteoclastic activity were observed in all xenograft group not in concerned to HA, but there was no difference each group after 4 weeks. There are most activated angiogenesis around graft mateirals in xenograft group at 2 weeks, but in HA treated xenograft group, decreased angiogenesis was observed at same time.

Bone formation and bone maturation of xenograft group, there was no difference in HA treatment, was less than control group. Fibrosis around xenograft materials were observed until 6 weeks, there was no difference between xenograft and HA treated groups.

Key words : Hyaluronic acid, Xenograft, Rat Calvaria, Bone Defect, DFDBA

I. 서 론

감염, 외상, 낭종, 종양 등 다양한 원인에 의해 구강악안면 영역에서 골결손부가 발생하고 있으며 이러한 골 결손부는 크기에 따라서 다양한 기능장애, 안모변형 등으로 인한 심미적 장애와 이로 인해 환자의 정서적 장애를 일으키기 때문에 골 결손부의

안정이나 치유를 증진시키기 위해 골 이식술이 가장 많이 사용된다.

골 이식술에 사용되는 골 이식재를 공급원에 따라 분류하면 자가골, 동종골, 이종골, 합성골 등으로 구분할 수 있으며¹⁾, 이중 자가골은 주변 생체조직의 염증반응, 독성반응이나 부작용없이 적응하는 생체 적합성이 있어, 골 형성세포의 작용을 증진시키는 비계로 작용하는 골 전도성(Osteoconduction)과 국소적 간엽세포들을 골 형성세포로의 분화를 유도하는 골유도능(Osteoinduction) 모두를 가진 가장 이상적인 골 이식재라 할 수 있으나^{2,3)}, 자가골을 얻기위한 추가적인 시술이 필요하며 이로 인한 통증 및 수술시간의 증가, 감염 위험성의 증가, 수술로 채취할 수 있는 자가골 양의 제한, 이식편 흡수 등의 단점^{4,7)}에 의해서 자가골을 대체할 수 있는 이식재가 요구되고 있다^{5,8,9)}.

조 이 수

570-749, 전라북도 익산시 신용동 344-2

원광대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

I-Su Jo

Dept. of Oral & Maxillafacial Surgery, School of Dentistry, Won-Kwang Univ.

#334-2, Sinyong-Dong, Iksan-Si, Jeollabuk-Do, 570-749, Korea

Tel : 82-63-850-1922 Fax : 82-63-852-4939

E-mail : onmsmin@wonkwang.ac.kr

합성골 대체물은 현재 다양한 재료가 소개되고 있는데 그중 대표적인 것은 수산화 인회석(Hydroxyapatite)으로 구조와 성분이 골과 유사하지만 매식부에서 광물 저장기(mineral reservoir)로서 작용하여^{10,12)} 골전도 과정에 의해 골을 형성하게 된다고 보고되고 있다^{13,14)}. 그러나 매식부에서 섬유성 결합조직의 개재 및 비흡수성으로 인한 단점들도 발생하여 최근 흡수성이 뛰어난 수산화인회석의 개발이 계속되고 있다^{10,11,15,16)}.

동종골 및 이종골의 경우 자가골의 단점인 수술부위 이외의 외상을 주지는 않으면서 원하는 양을 획득할 수 있는 장점이 있지만, 이물질로 인해 면역반응을 초래하거나 감염의 위험성이 있다^{17,18)}. 이종 동종골과 이종골이 가지고 있는 항원성이 가장 큰 단점이므로 이들의 항원성을 제거하고 생체 조직 적합성을 얻기 위하여 단순, 냉동건조, 탈회, 방사선 조사압, 열 멸균등의 다양한 방법으로 처리 보관되고 있다. 특히 탈회는 골기질의 골생성 단백질 제거하지 않으며, 골유도능을 유지하고 있어 숙주조직의 신생골 형성능력을 쉽게하는 것으로 알려져 있다^{19,20)}.

최근 들어 임플란트가 치과 외래 진료의 중요한 부분으로 자리잡게 되면서 골이식에 대한 관심이 증가되고 있고, 골 전도 물질, 골 유도 물질 및 골원성 물질을 사용하여 골조직을 보다 빠르게 재생시키고 성숙시키는 방법들이 많이 연구되고 있다^{21,22)}. 최근에는 골조직의 재생능력을 증가시킬 수 있는 여러 생약제제 및 약물에 대한 보고가 있으며 이러한 약물 및 생약제제의 골 형성 능력 및 작용에 대한 연구 및 개발에 많은 관심이 기울여지고 있으나^{23,27)}. 이들 물질의 임상적 응용은 국소 조직에 이용시 타기관에 미치는 영향, 적용방법에서 문제점, 경제적인 측면의 실용성 등 아직 해결되어야 할 문제가 많다.

히알루론산은 결합조직의 기저물질로 1934년 Meyer와 Palmer에 의해 소의 눈(bovine vitreous)에서 처음 발견되었고 음이온의 점액다당류(polyanionic mucopolysaccharide)로써 생체 고분자 물질이며 골세포에서도 세포외 기질중 하나로 존재하는 것으로 알려져 있다²⁸⁾. 하이알루론산은 모든 동물의 조직액속에 다 존재하며 근본적으로 생체 구성물질이기 때문에 생체적합성과 생분해성이 뛰어난 것으로 알려져 있으며 특히 태아기 초기에는 매우 풍부하고 태아기때 장기 발달에 있어 중요한 역할을 담당한다고 보고되어지고 있다^{29,30)}.

골형성과의 관계에서 창상치유 특히 골절된 long bones의 치유과정에서 가골을 형성하는 초기 단계에서 상당한 양의 히알루론산이 합성되어진다고 보고된 이후³¹⁾, 창상치유 뿐만 아니라 골형성과정에서 히알루론산이 연관됨을 많은 연구가들이 보고하고 있으며³²⁻³⁶⁾ 최근 조등은 히알루론산에 대한 실험실적 연구에서 히알루론산이 골세포에 대한 골형성을 촉진시킨다고 보고하였다³⁷⁾.

본 연구의 목적은 백서의 두개골에 7×7 mm결손부를 형성한 후 백서의 자가골, 동결건조 동종골, 동결건조 이종골 단일 매식한 경우와 히알루론산을 처리하여 매식한 동결건조 이종골을 이식한 경우를 육안소견, 조직학적소견을 비교 관찰하여 히알루론산이 두개골 결손부에 이식된 이종골의 치유 및 골 재생능력과정에서 미치는 영향을 알아보고자 시행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구재료

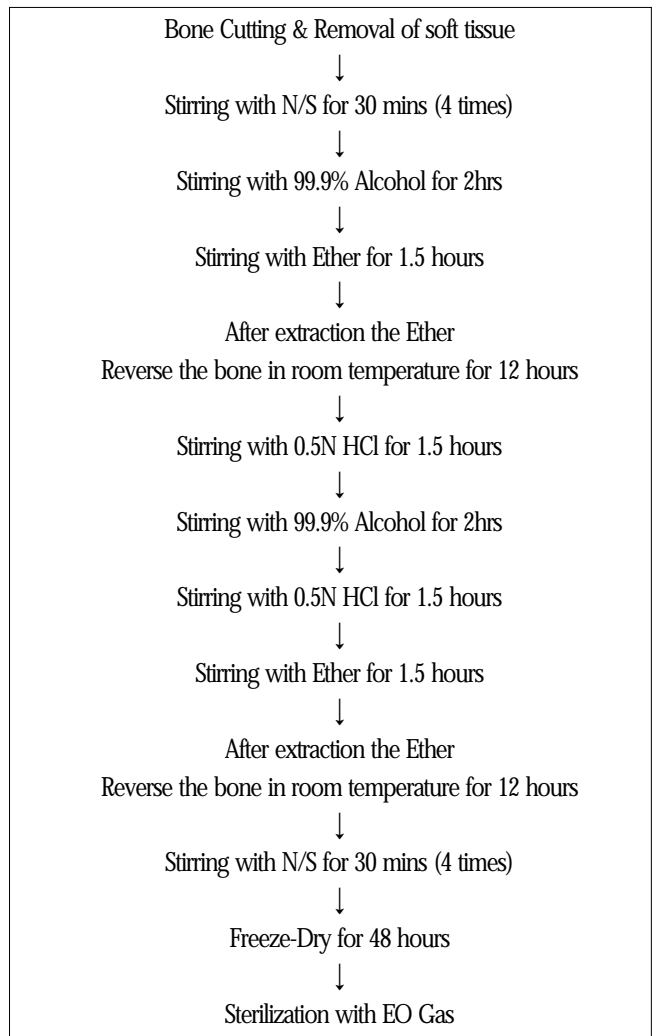
실험동물을 일정기간 동안 동일 조건에서 사육된 체중 250g 내외의 생후 3개월된 Spague-Dawley계 백서 30마리를 대조군 및 실험군 15마리씩 2개군으로 분류하였다.

2. 연구방법

1) 동물실험

(1) 이식체의 준비

30마리의 백서를 희생시킨 후 두정부에 정중부 절개를 3 cm 길이로 시행한 뒤 근육 및 골막을 박리하여 두개골을 노출시킨 후 치과용 high speed handpiece와 Round bur를 이용하여 전두골, 측두골, 후두골을 포함한 두개골을 채취하였다.



Schematic Diagram 1. Procedure of Allogeneic bone preparation according to WKBB method

채취된 두개골은 이식체의 항원성을 감소시키기 위하여 골막 및 주위 연조직을 모두 제거한 후 가로 세로 각각 약 5 mm의 크기로 절단하여 골편을 만든 다음 Hot plate에 0.9% 생리식염수로 30분간씩 4번의 세척을 시행하였다. 탈수를 위하여 99.9% 알코올 용액에 2시간동안 세척하고 탈지를 위해 Ether용액에 1시간 30분 동안 담가놓은 후 Ether용액을 제거하고 Ether에 적셔진 골을 실온에 약 12시간 방치하였다. 12시간동안 실온에서 방치되었던 골을 0.5N HCl용액에 약 1시간 30분 동안 탈회를 시행하고 생리식염수로 세척한 다음 99.9% 알코올 용액에 2시간 동안 탈수하였다. 다시 생리식염수로 세척하고 Ether로 1시간 30분 동안 탈지하였으며 Ether용액을 제거하고 Ether에 적셔진 골을 실온에 약 12시간 방치하였다. 재차 생리식염수로 세척한 후 냉동 건조기기(Labconco, Kansas, USA)를 이용하여 -54°C 와 7.6×10^{-6} mmHg 기압으로 냉동건조를 48시간동안 실시(이하 원광골은행(Wonkwang Bone Bank, WKBB)골 처리과정임)하여 골을 처리한 후 Mill과 Sieve를 이용하여 1 mm크기로 만들어 Ethylene Oxide Gas로 소독을 하였으며 이식에 사용할 골을 준비하였다(Schematic Diagram 1).

(2) 두개골 결손부 형성

30마리 백서의 두개골(양측 측두골)에 인공적으로 결손부를 형성한 후 대조군 15마리는 우측 결손부에는 자가골, 좌측 결손부에는 백서의 동종골(탈회동결건조골)을 이식하였으며 실험군 15마리에서는 우측 결손부에는 히알루론산을 처리한 이종골(사람의 탈회동결건조골), 좌측 결손부에는 이종골(사람의 탈회 동결건조골)만 단독 이식하였다.

실험동물은 시오펜탈 나트륨(펜토탈소디움, 중의제약) 0.5 mg/kg을 복강막 주사하여 전신마취를 유도하였으며 ether를 이용하여 전신마취를 유지하였다. 통법에 따라 두부 제모와 포타딘을 이용한 소독을 통하여 무균적 수술시야를 확보하고, 술부에 2% Lidocaine HCl을 1.8 cc 주입하여 국소마취 및 지혈효과를 기대하였다.

두정부 상방에 수직절개를 시행한 후 통법에 의해 두개골을 노출시켰다. 0.9% 생리식염수로 술부를 세척한 후 두개부 좌우측에 가로 세로 7×7 mm 정사각형 모양의 크기로 골을 제거하여 골 결손부를 만든 후 생리식염수를 세척하였다. 동결건조골은 감염 방지 및 이식 실패를 방지하기 위하여 준비된 이식체를 증류수 10 ml에 500 mg으로 혼합한 세팔로스포린 계통의 항생제 용액에 30분간 재수화 시킨 후 대조군의 우측 결손부에는 좌측에서 제거해낸 자가골을 이식하였으며 좌측에는 원광골은행에서 처리한 동종골을 이식하였다. 실험군에서는 우측 결손부에는 원광골은행에서 처리한 이종골(사람의 탈회동결건조골)에 히알루론산으로 수화 처리한 골, 좌측 결손부에는 원광골은행에서 처리한 이종골(사람의 탈회동결건조골)만을 이식하였다.

생리식염수로 술부를 조심스럽게 세척한 후 3-0 Black silk로 층별 봉합한 후 술부를 포타딘으로 소독하였다. 술 후 즉시 Amiktam(근화제약) 항생제를 20 mg/kg을 근육주사하였다.

(2) 조직병리학적 검사

조직검사를 위하여 실험후 1주, 2주, 4주, 6주, 8주로 나누어 실험동물을 희생한 후 주위조직을 포함하여 결손부를 채취하고 10% 중성 포르말린 용액에 2일간 고정하였다. 각각의 표본은 formic acid-sodium citrate 방법으로 탈회를 시행한 후 파라핀으로 포매하고 4 μm 두께로 조직절편을 만들었다. 그후 Hematoxyline-Eosin 염색과 Goldner's Masson Trichrome 염색을 실시하고 광학 현미경을 통하여 수술부위의 염증세포 침윤, 신생모세혈관 증식, 섬유화, 파골 및 골모세포 활성화, 신생골 형성, 골 성숙정도 등을 음성(-), 약양성(+), 중등도 양성(++), 강양성(+++)까지 4단계로 구분하여 검경하였다.

III. 연구결과

1. 백서 두개골 결손부의 육안적 소견

대조군인 자가골 이식군과 동종골 이식군은 동종골이식군이 실험 1주에서 자가골 이식군보다 약간 많은 육안적 염증소견 및 이식편의 이동등을 발견할 수 있었으나 2주에서 염증반응이 적어지면서 주위골과 약한 결합을 보여주었고(Fig. 1A), 4주후에는 두 이식군 모두 주위골과 점차 융화되는 양상을 발견할 수 있었으며 두 군간에는 차이가 없는 유사한 치유 양상을 보였다. 6주군에서는 두 군 모두 주위골과 구별하기 힘들 정도로 골 형성이 잘되었고(Fig. 1C) 8주에서는 6주군과 비슷했지만 좀 더 단단히 결합되어 있었다.

사람 탈회동결건조골만을 이식한 이종골군에는 실험 1주에서 대부분의 이식편이 고정이 되지 않고 움직이며 심한 염증을 발견할 수 있었다. 2주에서는 1주와 같이 아직도 염증을 볼 수 있었고 주위골과는 약한 결합을 하면서 일부 이식편은 아직도 움직이는 양상은 볼 수 있었다. 4주군에서는 주위골과 점차 융화되는 양상을 발견할 수 있었으나 아직은 약한 결합을 볼 수 있었으며 육안적인 염증은 발견할 수 없었다. 6주군에서는 골 형성이 진행되는 모습을 발견할 수 있었으나 주위골과 구별할 수는 있는 정도였다. 8주에서는 6주군과 비슷한 양상이나 주위골과는 구별할 수는 있었다.

히알루론산 처리 이종골 이식군은 실험 1주에서 이종골 이식군과 유사한 심한 염증이 보였지만 고정이 되지 않고 움직이는 이식편은 발견할 수 없었다. 2주에서도 이종골 이식군과 같은 염증을 발견할 수 있었으나 감소되는 양상을 보였다. 4주군에서는 주위골과 점차 융화되는 양상을 발견할 수 있었으나 아직은 약한 결합양상을 볼 수 있었으며 육안적인 염증소견은 발견할 수 없었다. 6주와 8주군에서 점차 골 형성이 진행되어 6주군에서는 주위골과 구별할 수는 있는 정도였지만 8주군에서는 주위골과는 구별할 수는 없을 정도로 골융합이 진행되었다(Fig. 1B, 1D).

2. 백서 두개골 결손부의 조직학적 소견

1 주

대조군인 자가골과 백서의 동종골 이식군 모두 골이식 부위에는 중등도의 염증세포 침윤을 볼 수 있는(Fig. 2A, 2B) 반면, 이종골군에서는 가장 심한 염증세포침윤을 관찰할 수 있었는데 이식골 주위에 출혈과 많은 염증세포 침윤을 동반하고 있었다(Fig. 2C).

히알루론산을 처리한 이종골군에서도 약간의 차이는 있었지만 많은 염증세포침윤을 발견할 수 있었으며 히알루론산 처리유무에 따른 염증세포 침윤, 신생골 형성 차이는 없었다. 파골세포 출현은 실험군과 대조군간의 차이가 없이 미약하였으며 신생골 형성은 전군에서 관찰되지 않았고 모세혈관 형성 또는 출혈은 대조군보다는 이종골군에서 가장 많았는데 히루론산 처리 이종골군에서는 이보다 감소된 중등도로 나타났다(Fig. 2D).

2 주

대조군인 자가골과 백서의 동종골 이식군 모두 염증세포침윤이 없어지고 섬유조직으로 대체되며 조골세포의 활성도가 관찰되기 시작하였다(Fig. 3A, 3B).

이종골 이식군에서는 이식편 주위에 염증 및 출혈이 여전히 중등도로 관찰되고 육아조직으로 둘러싸여 있었다(Fig. 3C). 히알루론산을 처리한 이종골군은 이종골만 이식한 군보다는 적은 정도의 염증세포 침윤과 약한 모세혈관 형성을 관찰할 수 있었으나 조골세포활성, 신생골 형성은 없었고 파골세포에 의한 골흡수는 이종골이식 실험군 모두에서 히알루론산 처리유무에 관계없이 모두 발견할 수 있었다(Fig. 3D).

4 주

대조군인 자가골과 백서의 동종골 이식군의 4주에서 두 군 모두 증가된 조골세포 활성도와 숙주골주위로 신생골이 활발히 형성되는 모습이 관찰되었다(Fig. 4A, 4B).

Table 1. Inflammatory Cell Infiltration According to Graft Type and Healing Time

	Auto	Rat DFDBA	Human DFDBA	HA + Human DFDBA
1 Week	+	++	+++	+++
2 Weeks	±	±	++	+
4 Weeks	±	±	+	+ / ±
6 Weeks	-	-	-	-
8 Weeks	-	-	-	-

±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe

Table 2. Angiogenesis According to Graft Type and Healing Time

	Auto	Rat DFDBA	Human DFDBA	HA + Human DFDBA
1 Week	+	+	+++	++
2 Weeks	±	±	++	+
4 Weeks	±	±	±	±
6 Weeks	±	±	±	±
8 Weeks	-	-	-	-

±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe

Table 3. Osteoclastic Activity According to Graft Type and Healing Time

	Auto	Rat DFDBA	Human DFDBA	HA + Human DFDBA
1 Week	±	±	±	±
2 Weeks	±	±	+	+
4 Weeks	-	±	±	±
6 Weeks	-	-	-	-
8 Weeks	-	-	-	-

±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe

Table 4. Osteoblastic Activity According to Graft Type and Healing Time

	Auto	Rat DFDBA	Human DFDBA	HA + Human DFDBA
1 Week	±	±	±	±
2 Weeks	+	+	±	±
4 Weeks	++	++	±	+
6 Weeks	+++	+++	+	+
8 Weeks	+++	+++	+	++

±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe

Table 5. New Bone Formation According to Graft Type and Healing Time

	Auto	Rat DFDBA	Human DFDBA	HA + Human DFDBA
1 Week	±	±	±	±
2 Weeks	++	+	±	±
4 Weeks	+	±	±	±
6 Weeks	++	++	±	±
8 Weeks	+++	+++	±	±

±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe

Table 6. Bone Maturation According to Graft Type and Healing Time

	Auto	Rat DFDBA	Human DFDBA	HA + Human DFDBA
1 Week	+	±	±	±
2 Weeks	++	++	±	±
4 Weeks	++	++	±	±
6 Weeks	++	++	±	±
8 Weeks	+++	+++	±	±

±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe

Table 7. Fibrosis According to Graft Type and Healing Time

	Auto	Rat DFDBA	Human DFDBA	HA + Human DFDBA
1 Week	±	±	±	±
2 Weeks	++	+	++	++
4 Weeks	++	++	++	++
6 Weeks	±	±	++	++
8 Weeks	±	±	++	++

±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe

이종골 이식군에서는 염증세포침윤과 파골세포에 의한 골흡수가 약한 정도로 감소하였지만 조골세포활성 및 신생골 형성은 발견되지 않았으며 일부에서는 생활력이 없는 골도 관찰되었다 (Fig. 4C).

히알루론산을 처리한 이종골군에서는 염증소견과 파골세포에 의한 골흡수는 이종골에 비해 약간 감소되었으며 일부에서는 조골세포 활성도가 관찰되기 시작했으나 신생골 형성이나 골의 성숙등은 관찰되지 않았다 (Fig. 4D).

6 주

대조군인 자가골과 백서의 동종골 이식군 두 군은 골 치유과정이 유사하게 나타났는데 골결손부가 성숙골로 대체되어 6주째에서는 거의 숙주골과 융합되는 양상을 발견할 수 있었다 (Fig. 5A, 5B).

이종골 이식군에서는 일부에서는 모세혈관의 증식이 보여지며 이식편은 섬유조직으로 둘러싸여 있었으나 6주에서야 조골세포 활성도가 관찰되었으며, 신생골의 형성이나 성숙된 골로

대치는 관찰되지 않았다(Fig. 5C). 히알루론산을 처리한 이종골군에서는 4주째 보이던 조골세포 활성도가 증가되고 신생골의 생성 및 골의 성숙은 미약하게 관찰되었다(Fig. 5D).

8 주

대조군인 자가골과 백서의 동종골 이식군 두 군은 6주보다 성숙된 골로 대체되어가고 두 군간의 차이는 거의 없었다.

이종골 이식군에서는 조골세포 활성도, 신생골 형성, 성숙된 골로의 대체 등이 6주와 큰 변화가 없었으며 히알루론산을 처리한 이종골군에서는 6주보다는 증가된 중등도의 조골세포 활성도 양상을 발견하였으나 신생골의 생성 및 골의 성숙은 아직도 미약한 양상을 보여주고 있었다.

IV. 총괄 및 고찰

다양한 원인에 의해서 구강 악안면 영역에서의 골 결손부가 발생하고 있으며 이러한 골 결손부는 골 결손부의 심미적, 기능적 회복과 안정이나 치유를 증진시키기 위하여 골 이식술이 가장 많이 사용된다. 기본적으로 골 이식의 목적은 골의 생역학적 역할을 유지하게 하는 골의 형태학적, 생리학적 기능을 복원시키는데 있다.

매식된 이식재는 세가지 방법을 통하여 골을 형성한다고 알려져 있다.³⁸⁻⁴⁰ 첫째는 골생성(osteogenesis)으로 이는 이식재안에 살아남아있는 조골세포(osteoblast)와 전조골세포(preosteoblast)가 매식부 주위에서 골화반응을 일으킬 수 있는 능력을 가짐으로써 신생골의 형성이 이루어진다는 것을 말한다. 형성된 신생골의 양은 살아있는 이식세포의 수에 비례하며, 해면골과 골수이식에서 보여진다. 둘째는 골유도(osteinduction)로 이는 매식부 내의 골형성 단백질(Bone morphogenetic protein, BMP)와 같은 화학주성을 가진 물질이 매식부 주위에 있는 숙주의 미분화 간엽세포들을 조연골세포(chondroblast), 조골세포(osteoblast)로 변환하게끔 유도하여 골형성이 이루어지게 하는 것이다. 셋째 골전도(osteochonduction)는 이식된 이식재는 매식부 내측으로 혈관화를 위한 비계(scaffold)로서의 역할만하고 이식부 주위 숙주의 분화된 간엽세포들이 조연골세포, 조골세포를 제공하고 이식된 물질을 기질로하여 골을 형성하는 것을 가르키며 이식된 이후 이식체의 흡수와 신생골의 침착이 반복적으로 나타나는 부복치환(creeping substitution)을 통하여 새로운 골을 형성하게 되며 매식부 주위의 골과 분화된 간엽세포가 필수적이다²³.

골 이식시 사용되는 이식재료들은 즉시 사용이 가능하고, 면역반응을 일으키지 않으며, 빠른 골생성 및 재혈관화를 촉진하고 골의 지지와 연속성을 유지하는 등의 기본적인 조건을 만족시킬 수 있어야 한다¹. 이런 조건에 가장 부합되는 자가골은 골전도성과 골유도성을 가지고 있는 효과적인 골 이식재료임을 알 수 있다. 그러나 자가골의 재료로 가장 많이 사용되는 장골이식에서도 약 8%정도에서 감염, 동맥 손상에 의한 혈액의 소실, 혈중의 생성, 신경손상, 단기간 혹은 장기간의 동통, 보행이상, 특히 예상치 못한 만기 흡수 등 여러가지 부작용 등을 발견할 수 있었다⁴¹.

따라서 비교적 흡수가 적다고 알려진 구강내 자가골 사용을 옹호하는 연구도 있지만 구강내 자가골 또한 채취양의 한계성이 있고, 수술부위가 구강내로 한정되더라도 수술시간의 증가, 술 후 질병율의 증가등이 발생할 수 있어⁴²⁻⁴⁵ 다양한 자가골 대체물에 대한 연구가 이루어지고 있다.

현재 동결건조골 및 동결건조 탈회골, 이종골 그리고 흡수성 및 비흡수성 합성골 등 다양한 재료들이 자가골의 대체물로 사용되고 있으며, 이들 재료들은 단독 혹은 혼합되어 다양한 골 부족부위에서 사용되어진다. 이들 재료들의 사용은 골 이식술을 간단하고, 개인 치과에서도 실시할 수 있으며, 국소 마취 하에서 시행이 가능하도록 만들었다. 이러한 비용절감 이외에도 수술시간의 단축 및 골 채취를 위한 이차적인 수술의 불필요성에 의한 질병 이환율의 감소등에 의해서 이러한 다양한 재료들의 사용은 점차 각광을 받고 있다⁴⁶.

이중에서 이종골 이식은 Urist⁴⁷의 선구적인 실험이래로 다양한 동물실험에서 골의 생성능력 및 골성장 촉진 작용을 평가하는데 주요한 실험모델로써 사용되어 왔는데 채취 및 사용할 수 있는 양의 무제한성, 부가적인 외상의 불필요성, 낮은 비용등이 장점으로 거론되고 있으나 이식체 중에서 가장 강한 항원성을 가지고 있다. Thielemann⁴⁸은 동종골과 이종골을 이식한 후 비교하는 실험에서 동종골은 골의 생성이 6개월이 지나후에도 발견할 수 있었으나 이종골은 염증세포 침윤만을 발견할 수 있었다고 보고하였고, Manily⁴⁹ NK cell의 억제성 receptor가 각 종마다 가지고 있는 MHC class I molecule의 교차반응에 관여하여 이종골의 이식거부반응에 동종골의 거부반응에서보다 큰 역할을 한다고 주장하였다.

이종골의 골이식 실험에서 Urist^{47,50,51}, Huggins⁵², Salama⁵³, Aspenberg⁵⁴ 등은 흉선이 제거된 쥐에게 사람이나 소, 토끼 등의 동결건조 탈회된 이종골을 이식시 골유도양상을 발견할 수 없었다고 보고하였으나 Ripamonti⁵⁵ 사람과 비비원숭이의 동결건조탈회골을 이식한 실험에서 흉선이 제거되지 않은 경우에는 발견되지 않았던 골유도되는 양상이 흉선이 제거된 쥐와 비비원숭이에 이식한 경우 이들 모두 연골내 골화과정이 유도됨을 발견하였다. 또한 Thielemann⁵⁶ 탈회 동결건조 이외의 CaCl₂, EDTA, LiCl 등 부가적인 처리를 돼지의 동결건조탈회골이 쥐에게 이식되었을 때 중등도의 골유도 능력을 발견할 수 있었음을 보고하였다. Aldinger⁵⁷ 면역억제제인 Cyclosporin A를 투여한 쥐에게 돼지의 BMP를 처리한 경우 보다 왕성한 골 형성능력을 발견할 수 있었음을 보고하였다.

최근에 가장 많이 사용되는 이종골인 우골 유도합성골 Bio-Oss[®]은 다양한 처리 과정을 거쳐 항원성을 제거한 소에서 기원한 이종골로 사람의 치주기원 골 결손부로 이식시 치주낭 깊이가 감소, 부착치은의 증가, 골의유지등에서 동결건조 탈회 동종골과 유사한 결과를 보인다고 하였다⁵⁸. Valdre⁵⁹는 칼슘과 인의 비율, 표면면적, 결정의 크기, 다공성 등의 특성면에서 탈회 동결건조 동종골(Demineralized freeze-dried bone allografts; DFDBA)과 수산화 인회석을 비교하였을 때 우골 합성골이 인간의 해면골에 더 유사하다⁶⁰고 보고하였다. 백서의 결손부에 치아회분과 석고 혼합매

식제, 탈회냉동건조골 및 흡수성 수산화인회석을 매식후 비교 연구에서는 탈회 냉동건조골은 초기부터 신생골소주 생성이 아주 활발히 이루어지고 골유도에 의한 연골내 골화가 발생하며, 치아회분과 석고 혼합매식제와 흡수성 수산화인회석 이식군은 초기에 염증양상을 발견할 수 있었으나 실험 3주이후 유사한 치유과정을 보인다고 하였다⁶⁰. 따라서 이종골의 이식시에는 항원성에 대한 처리가 보다 중요한 관건이 되며 탈회나 동결건조 이외에도 항원성을 제거하는 보다 부가적인 처리과정이 필요함을 알 수 있다.

본 실험에서도 단순히 탈회 및 동결건조를 시킨 이종골의 이식군에서는 이식 초기부터 심한 염증반응 및 일부에서는 이식재료가 이동하는 양상을 보여주어 항원성이 아직도 유지되고 있으며 이식재료의 고정도 용의치 않음을 알 수 있었다. 이러한 염증반응은 약 4주까지도 계속되었고 염증반응이 가라앉은 6주에서야 골형성 능력이 나타남을 발견할 수 있었다. 그러나 육안적인 소견에서 치유가 대조군과 유사해 보여지는 양상을 고려해볼 때 12주 이상의 연구를 통해 골형성의 유무를 확인해야 한다고 사료된다. 또한 이종골의 초기 염증반응을 감소시키는 부가적인 처리 및 처리가 필요하며 이러한 염증의 조기 감소는 골생성능력을 보다 빨리 나타나지 않을까 생각된다.

최근 골 조직을 골결손부에 단순히 골을 이식하는 것 뿐만 아니라 골원성 물질, 골유도물질 등을 이용하여 보다 효과적으로 골을 형성하는 실험들이 많이 시행되고 있다. 양의 두개골에 형성된 골결손부에 쥐의 골형성 단백질과 collagen matrix를 매식한 실험에서 자가골에 비해 현저히 골형성이 증가된 양상을 보고하여 이종의 골형성 단백질이라도 골형성을 유도시키는 능력이 있음을 보고하였으나⁶¹ 동종의 골 유도단백질과의 비교에서는 이종골 유도 단백질의 골 유도 능력이 동종의 골형성 단백질의 골 유도 능력보다는 다소 미약한 양상을 보인다는 것을 보고하였다.⁶² 임플란트 주위의 골결손부에 이종 동결건조 탈회골을 이용한 골유도 재생술을 시행한 실험⁶³에서 이종 동결건조 탈회골의 이식과 골유도 재생술 모두를 시행한 군에서는 술 후 12주 후 결손부에 대한 골의 형성 및 결손부의 치유를 발견할 수 있었으나 단순히 이종골을 이식한 경우에서는 골 결손부가 계속 유지되고 있었다고 하였다. Tuominen 등은⁶⁴ 개의 척추골 결손부에 우골 합성골을 이식한 실험에서 우골의 골형성단백질을 혼합한 경우 술 후 20주에서 골의 형성이 증가되고, 골의 강도도 증가되었다고 하였다.

본 연구에서는 실험실상 골 형성 능력이 있다고 보고된⁶⁵ 히알루론산을 생체내 이종골에 투여시 이종골만을 이식한 군에서 4주까지 계속 남아있던 염증반응이 2주에서부터 약해지면서 빨리 감소하며 4주부터 조골세포의 활성화도가 조금씩 나타나는 양상을 발견할 수 있었다. 따라서 히알루론산의 처리가 항원성이 높은 이종골의 초기 염증반응을 빨리 감소시키며 조골세포를 활성화 시키는데 영향을 미친다고 생각된다. 또 점도가 있는 히알루론산은 골이식재료가 이식된 위치에 유지되고 생착되는데 보다 도움이 되며 이식 초기 이식편의 이식된 위치 유지는 주위 속주골에 있는 조골세포들이 이식재료 내로의 이동을 보다 빨리

가능하게 하였다고 사료된다.

히알루론산 처리 이종골 이식군이 단순 이종골 이식군보다 빠른 시기인 4주부터 조골세포의 활성화도가 보인다고 하지만 다른 동종골 등에서의 히알루론산이나 다른 성장인자의 처리시 보다는 상당히 늦게 활성도를 보이는 것으로 사료된다. 또한 골의 성숙되는 양상이나 신생골의 생성은 미약하거나 거의 약하게 나타나는 양상을 볼 때, 히알루론산이 이종골에서 골을 유도시키는 지에 대한 보다 보완된 연구가 필요하다고 사료된다.

그러나 동종골에서 히알루론산을 처리한 동물 및 실험실적 연구^{32,36}에서 히알루론산 처리시 증가된 골생성량 및 조골세포 활성도를 발견하는 것을 고려할 때 이종골 이식시 나타는 염증반응에 의해서 히알루론산이 가지고 있는 골 형성능력이 감소되거나 숨겨지는 양상으로 나타난다고 추정된다. 또한 다른 실험등에서도 이종골의 이식시 골 생성 등이 늦거나 미약한 경우가 많았고 12주 이상 장기적으로 관찰한 경우가 많아, 조골세포 활성화도가 4주에서 처음 나타나고 8주에서 증가된 점들을 고려해볼 때 12주 이상의 장기적인 관찰에서는 보다 활발한 조골세포의 활성화 및 신생골의 생성등이 관찰될 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 앞으로 히알루론산의 골에 미치는 영향에 대한 임상적 응용과 투여 방법, 농도별 안정성 여부등에 관한 더욱 장기적이고, 체계적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

히알루론산이 두개골 결손부에 이식된 이종골의 치유 및 골 재생능력과정에 미치는 영향을 알아보고자 백서의 두개골에 7×7 mm 결손부를 형성한 후 대조군에는 자가골, 동종골(백서의 동결건조골)을 실험군에는 이종골(사람의 탈회동결건조골)과 히알루론산 처리 이종골(사람의 탈회동결건조골)을 이식한 경우를 육안 소견, 조직학적소견을 비교 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 모든 이식재료에서 이식 초기에는 염증반응을 발견할 수 있었는데, 자가골과 동종골인 백서의 탈회동결건조골에서는 1주에서만, 이종골인 사람의 탈회동결건조골이식군에서는 4주에서도 염증반응을 보였다. 그러나 히알루론산을 처리한 사람의 탈회동결건조골군에서는 2주까지에서만 염증반응을 발견할 수 있었다.
2. 조골세포 활성화도는 대조군에서는 모두 2주에서부터 보였지만 사람의 탈회동결건조골을 처리한 실험군에서는 6주부터 관찰되었고, 히알루론산을 처리한 사람의 탈회동결건조골군에서는 4주에서부터 관찰되었다.
3. 파골세포 활성화는 2주에 이종골 이식시 히알루론산 투여유무에 상관없이 경도로 나타났으며 4주이후에는 군간에는 차이가 없었다.
4. 이식편 주위의 모세혈관 증식은 이종골 단독 이식군에서 2주까지 가장 많았으며 히알루론산 투여시 2주까지 이종골 이식군보다 적었다.

5. 신생골 형성 및 골성숙은 자가골 및 동종골이식에 비해서 이종골이식시 히알루론산 투여에 관계없이 미약하였다.
6. 이식편 주위의 섬유화는 이종골이식시 6주 에서도 잔존되었으며 히알루론산의 투여에는 영향이 없었다.
 이상과 같이 백서의 골결손부에 이식된 이종골에 히알루론산을 처리한 경우는 이종골에서 발생된 염증이 보다 빨리 감소하며 조골 세포의 활성화도 보다 조기에 발견되었으나 골의 성숙되는 양상이나 신생골의 생성은 미약하게 나타나 이에 대한 계속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Boyne PJ. : Induction of bone repair by various bone grafting materials, hard tissue growth, repair and remineralization. Ciba Found Symp. 11: 121-128, 1973.
2. Masters DH. : Implants, Bone and bone substitutes. Calif Dent Asso J. 16: 56-65, 1988.
3. Jarcho M. : Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. Clin Orthop. 157: 259-278, 1981.
4. Rosenberg MM. : Free osseous tissue autografts as a predictable procedure. J Periodontol. 42: 195-209, 1971.
5. Hiatt WH, Schallhorn RG. : Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. J Periodontol. 44: 194-208, 1973.
6. Enneking WF, Morris JL. : Human autologous cortical bone transplants Clin Orthop. 87: 28-35, 1972.
7. Drago MR, Sullivan HC. : A Clinical and histological evaluation of autogenous iliac bone graft in humans. J Periodontol. 44: 599-613, 1973.
8. 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.
9. Diem CR, Bowers GM, Moffitt WC. : Bone blending ; A technique for osseous implants. J Periodontol. 43: 295-297, 1972.
10. Wagner JR. : A 3 1/2-year clinical evaluation of resorbable hydroxylapatite osteogen (HA Resorb) used for sinus lift augmentations in conjunction with the insertion of endosseous implants J Oral Implantol. 17: 152-164, 1991.
11. Wagner JR. : A Clinical and histological case study using resorbable hydroxylapatite for the repair of osseous defects prior to endosseous implants surgery. J Oral Implantol. 15: 186-192, 1989.
12. Costantino PD, Friedmand CD. : Synthetic bone graft substitutes. Otolaryngol Clin North Am. 27: 1037-1042, 1994.
13. Prokic B, Carranza FA, Kenny EB, et al. : Comparative clinical study of porous hydroxyapatite and decalcified freeze-dried bone in human periodontal defects. J Periodontol. 61: 399-404, 1990.
14. Papay FA, Morales L, Ahmed OF, et al. : Comparison of ossification of demineralized bone, hydroxyapatite, Gelfoam, and bone wax in cranial defect repair. J Craniofac Surg. 7: 347-351, 1996.
15. Corsair A. : A clinical evaluation of resorbable hydroxylapatite for the repair of human intra-osseous defects. J Oral Implantol. 16: 125-128, 1990.
16. Shimizu Y, Sugawara H, Frusawa T, et al. : Bone remodeling with resorbable bioactive glass and hydroxyapatite. Implant Dent. 6: 269-274, 1997.
17. Buring K, Urist MR. : Effects of ionizing radiation on the bone induction principle in the matrix of bone implants. Clin Orthop. 44: 225-234, 1967.
18. Mellonig JT, Prewett AB, Moyer MP. : HIV inactivation in a bone allograft. J Periodontol. 63: 979-983, 1992.
19. Sydney N, Burwell RG. : Decalcified bone as a substrate for osteogenesis. J Bone Joint Surg. 59-B: 189-196, 1997.
20. Bright RW, Fridlander GE, Sell KW. : Tissue Bank Milit Med 147: 503-510, 1977.
21. Canalis E, McCarthy TL, Centrella M. : The role of growth factors in skeletal remodeling. Endocrinol Meta Cl: North Am. 18: 903-918, 1989.
22. JW Shin. : An experimental study on healing effect of the PDGF treated allogeneic demineralized freeze-dried bone transplanted in the calvarial defect of the rat. J Kor Oral Maxillofac Plast Recon Surg. 22: 614-624, 2000.
23. JS Doo, JK Kang, HK Yu, HS Shin. : Effect of Natural medicines on cell activity in vitro. J Kor Acad Periodontol. 27: 459-468, 1997.
24. JK Kang, HK Yu, HS Shin. : Effects of Hyaluronic acid on mineralization of periodontal ligament cells and osteoblastic cells. J Kor Acad Periodontol. 28: 475-489, 1998.
25. KS Lee, SW Hong, KT Yu, HK Yu, YC Kim, HS Shin. : Effects of isolated extracts from safflower seeds on mineralization of periodontal ligament cells and osteoblastic cells. J Kor Aca Periodontol. 28: 745-754, 1998.
26. JH Kim, SM Cheun, MY An, SK Ku, JH Lee, MS Cha, KD Moon. : Effects of safflower seed feeding on bone tissue during rib fracture healing time in vivo. J Kor Acad Food Nutr. 27: 698-704, 1998.
27. DH Yoon, SC Lee, MY Kim, YC Kim, HK Yu, JH Kim, HS Shin. : Effects of safflower seed extract on osteoblastic activity and bone regeneration. J Kor Aca Periodontol. 28: 769-784, 1998.
28. Meyer K, Palmer JW. : The polysaccharide of the vitreous humor. J Biol Chem. 107: 629-634, 1943.
29. Kvist TN, Finnegan CU. : Distribution of glycosaminoglycans in axil region of developing chick embryo. I. Histochemical analysis. J Exp Zool. 175 : 221-240, 1970.
30. Toole BP, Gross J. : The extracellular matrix of the regenerating newt limb; synthesis and removal of hyaluronate prior to differentiation. Dev Biol. 26: 28-35, 1971.
31. Maurer PH, Hudack SS. : The isolation of hyaluronic acid from calus tissue of early healing. Arch Biochem Biophys. 38:49-53, 1952.
32. Iwata H, Urist MR. : Hyaluronic acid production and removal during bone morphogenesis in implants of bone matrix in rats. Clin Orthop Rel Res 90: 236-245, 1973.
33. Urist MR: Biochemistry of calcification. In: Bourne GH (ed) The biochemistry and physiology of bone. Academic Prss, New York, pp 1-59, 1976.
34. Sanberg MMHT and Vuorio EI. : Gene expression during bone repair. Clin Ortho Rel Res 289: 292-312, 1993.
35. Pilloni A, Bernard GW. : The effect of hyaluronan an mouse intramembranous osteogenesis in vitro. Cell Tissue Res. 294: 323-333, 1998.
36. Liu SS, Thompson AY, Heidarman MA, Poser JW, Spiro RC. : An osteoconductive collagen/hyaluronate matrix for bone regeneration. Biomaterials 20: 1097-1108, 1999.
37. YM Cho. : The effect of hyaluronic acid on mouse calvaria pre-osteoblasts osteogenesis In Vitro
38. Glowacki J, Mulliken JB. : Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. Plast Reconstr Surg. 65: 553-560, 1980.
39. Yim CJ. : Oral and maxillofacial reconstruction with bone allograft. J Kor Acad Maxillofac Plast Reconstr Surg. 56: 706-714, 1998.
40. Glowacki J, Mulliken JB. : Demineralized implants Clin Plast Surg. 12: 233-241, 1985.
41. Nevins M, Kirker-Head C, Nevins M. et al. : Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2. Int J Perio Rest Dent. 16: 8-19, 1996.
42. Moy PK, Lundgren S, Holmes R. : Maxillary sinus augmentation: Histomorphometric analysis og graft materials for maxillary sinus floor augmentation. J Oral Maxillofac Surg. 55, 857-862, 1993.
43. Hirsch JM, Ericsson I. : Maxillary sinus augmentation using mandibular bone grafts and simultaneous installation of implants. Clin Oral Implant Res. 2: 91-96, 1991.
44. Smiler DG. : Surgical solutions to prosthetic problems. Steri-Oss Mongraph, August 1993, pp 44-49.

45. Lazzara RJ. : The sinus elevation procedure in endosseous implant therapy. *Curr Opin Periodontol.* 3: 178-183, 1996.
46. Wheeler SL. : Sinus Augmentation for Dental implants: The use of Alloplastic materials *J Oral Maxillofac Surg.* 55, 1287-1293, 1997.
47. Urist MR. : Bone. : Formation by autoinduction. *Science* 150: 893-899, 1965.
48. Thielemann FW, Spaeth G, Veihelmann D, Schmidt K. : Osteoinduction. Part I: Test model and comparative long term observation of allogenic and xenogeneic matrix implants. *Arch Orthop Trauma Surg.* 99 : 217-222, 1982.
49. Manilay JO, Sykes M. : Natural killer cells and their role in graft rejection. *Current Opinion Immunology.* 10: 532-538, 1998.
50. Urist MR, Silverman BF, Buring K, Dubuc FL, Rosenberg JM. : The bone induction principle. *Clin Orthop Rel Res.* 53: 243-283, 1967.
51. Urist MR, Dowell TA, Hay PH, Strates BS. : Inductive substrates for bone formation. *Clin Orthop Rel Res.* 59: 59-96, 1968.
52. Huggins C, Wiseman S, Reddi AH. : Transformation of fibroblasts by allogeneic and xenogeneic transplants of demineralized tooth and bone. *J Exp Med.* 132: 1250-1258, 1970.
53. Salama R, Burwellg, Dickson IR. : Recombined grafts of bone and marrow: the beneficial effect upon osteogenesis of impregnating xenograft(heterograft) bone with autologous red marrow. *J Bone Joint Surgery.* 55B: 402-417, 1973.
54. Aspenberg P, Thorngren KG, Lohmander LS. : Rabbit bone matrix induces bone formation in the athymic rat. *ACTA Orthop Scand.* 59: 276-278, 1988.
55. Ripamonti U, Magan A, Ma S, Van Den Heever B, Moehl T, Reddi AH. : Xenogeneic osteogenin, a bone morphogenetic protein and demineralized bone matrices, including human, induced bone differentiation in athymic rats and baboons. *Matrix.* 11: 404-411, 1991.
56. Thielemann FW Schmidt K, Koslowski L. : Osteoinduction II; Purification of the osteoinductive activities of bone matrix. *Arch Orthop Traumat Surg.* 100; 73-78, 1982.
57. Aldinger G, Herr G, Kusswetter W, Reiss HJ, Thielemann FW, Holz U. : Bone morphogenetic protein: a review. *Int Orthop.* 15: 169-177, 1991.
58. Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvold MA, McDonnell HT, Cochran DL. : 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.
59. Valdre G, Mongiorgi R, Ferrieri P, Corvo G, Cattaneo V, Tartaro GP. : Scanning electron microscopy(SEM) and microanalysis(EDS) applied to the study of biomaterials for dental use. *Miberva Stomatol.* 44: 55-68, 1995.
60. Kim YK, Kim SG, Lee JG, Lee MH, Cho JO. : An experimental study on the healing process after the implantation of various bon substitutes in rats. *J Kor Oral Maxillofac Surg.* 27: 15-21, 2001.
61. Viljanen VV, Gao TJ, Lindholm TC, Lindholm TS, Kommonen B. : Xenogeneic mouse bone morphogenetic protein(mBMP)- induced repair of critical-size skull defect in sheep. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 25: 217-222, 1996.
62. Viljanen VV, Lindholm TS. : Comparison of native xenogeneic and allogeneic bone morphogenetic proteins in the sheep skull defect assay model. *Ann Chir Gynaecol.* 86: 255-259, 1997.
63. Cho KS, Choi SH, Han JH, Chai JK, Wikesjo UME, Kim CK. : Alveolar bone formation at dental implant dehescence defects following guided bone regeneration and xenogeneic freeze-dried demineralized bone matrix. *Clin Oral Impl Res.* 9: 419-428, 1998.
64. Tuominen T, Jamsa T, Tuukkannen J, Marttinen A, Lindholm TS, Jalovaara P. : Bovine bone implant with bovine bone morphogenetic protein in healing a canine ulnar defect. *Inter Orthop.* 25:5-8, 2001.

사진부도 설명

Fig 1. Macroscopic or gross finding with rat calvarial specimen

- (1A) 2W Control group
- (1B) 2W Experimental group
- (1C) 8W Control group
- (1D) 8W Experimental group

Fig 2. Microscopic finding with MT stain on 1week

- (2A) 1W Autogenous Bone, $\times 40$.
- (2B) 1W Allogeneous Bone, $\times 40$.
- (2C) 1W Xenogeneous Bone, $\times 100$.
- (2D) 1W HA treated Xenogeneous Bone, $\times 100$.

There were inflammatory reaction and angiogenesis in all materials. Xenograft group showing highest degree of sever inflammatory reaction(2D), and then HA treated xenograft group. There were mild inflammatory reaction in autogenous and allogeneous graft group(2A, 2B).

Fig 3. Microscopic finding with MT stain on 2 week

- (3A) 2W Autogenous Bone, $\times 40$.
- (3B) 2W Allogeneous Bone, $\times 100$.
- (3C) 2W Xenogeneous Bone, $\times 100$.
- (3D) 2W HA treated Xenogeneous Bone, $\times 100$.

Inflammatory reaction was diminished in autogenous and allogeneous graft group(3A, 3B)

Moderate inflammatory reaction and angiogenesis was observed in xenogeneous graft(3C), but inflammatory reaction(3D) was decreased in HA treated xenograft graft rather than xenograft(3C). Mild osteoclastic reaction was observed in all xenograft group, but there is no difference between xenograft and HA treated xenograft(3C, 3D).

Fig 4. Microscopic finding with MT stain on 4 week

- (4A) 4W Autogenous Bone, $\times 40$.
- (4B) 4W Allogeneous Bone, $\times 40$.
- (4C) 4W Xenogeneous Bone, $\times 100$.
- (4D) 4W HA treated Xenogeneous Bone, $\times 40$.

There were increased osteoblastic activity and new bone formation in autogenous and allogeneous graft group(4A, 4B). Xenograft group persisted mild inflammatory reaction(4C) and observed non-vital bone fragment, partially. However in HA treated xenograft group, there were rare inflammatory reaction and mild osteoblastic activity(4D).

Fig 5. Microscopic finding with MT stain on 6 week

- (5A) 6W Autogenous Bone, $\times 40$.
- (5B) 6W Allogeneous Bone, $\times 40$.
- (5C) 6W Xenogeneous Bone, $\times 100$.
- (5D) 6W HA treated Xenogeneous Bone, $\times 100$.

There were similar bone healing in autogenous and allogeneous bone(5A, 5B). Mature bone were remodeling in bone defect and graft material almost melt in bone.

Osteoblastic activity begun in xenograft group(5C), but there were no bone formation and maturation. In HA treated xenograft(5D), osteoblastic activity were increased and mild new bone formation were observed.

사진부도 ①

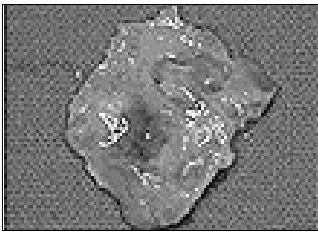
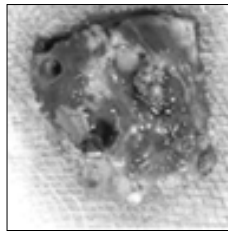


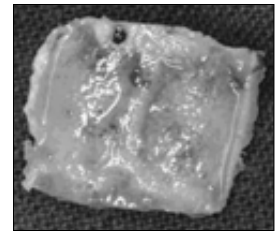
Fig. 1. (1A)



(1B)



(1C)



(1D)

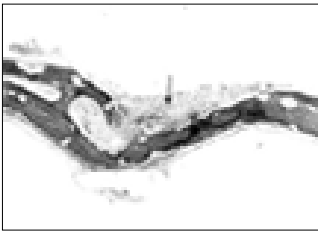
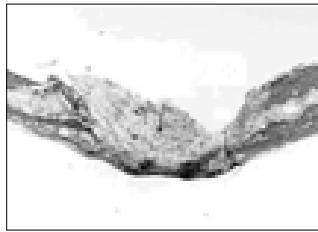
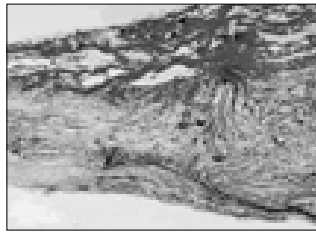


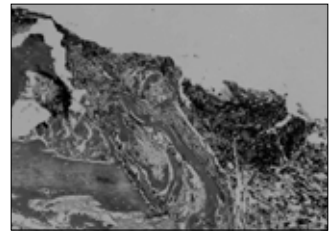
Fig. 2. (2A)



(2B)



(2C)



(2D)

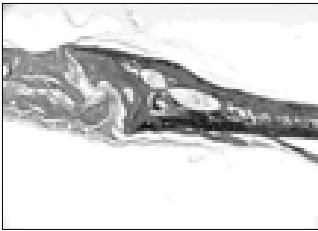
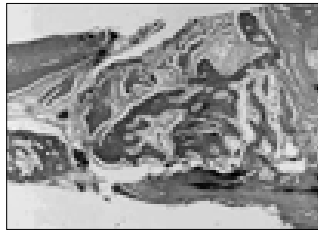
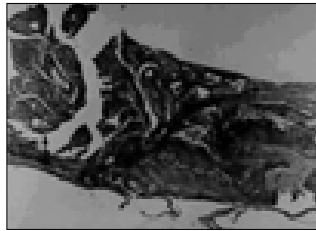


Fig. 3. (3A)



(3B)



(3C)



(3D)

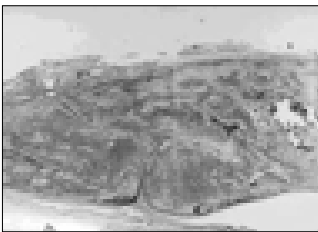
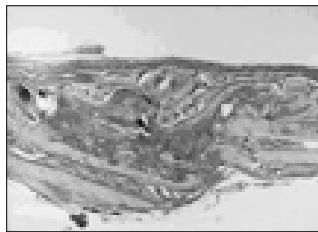


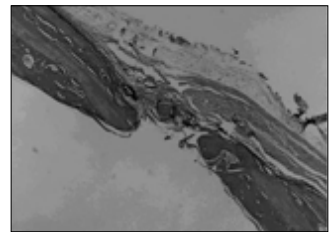
Fig. 4. (4A)



(4B)



(4C)



(4D)

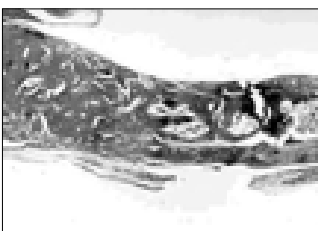
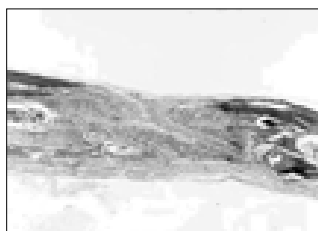
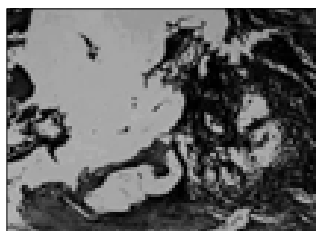


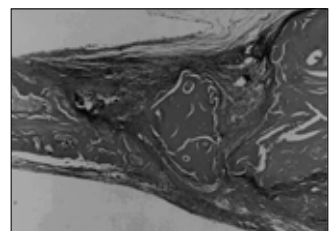
Fig. 5. (5A)



(5B)



(5C)



(5D)