

# 수중 골형성 증진제의 골형성능에 관한 조직형태계측학적 연구

신민철 · 류동목

경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

**Abstract** (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2003;29:282-292)

## A STUDY OF THE EFFECTS OF SEVERAL BONE-ENHANCING AGENTS

Min-Cheol Shin, Dong-Mok Ryu

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Kyung-Hee University*

Several agents are in use to promote new bone formation during bone graft procedures in maxillofacial region. Among them, we have used crude BMP, PRP, and P-15 for experimentally created defects with accompanying graft materials in the rabbit model. The aim of this study is to analyze the effect of above mentioned agents on bone formation using histologic and histomorphometrical methods, thus to provide experimental support for clinical application of these agents.

Six rabbits were used as experimental animals. Four surgical defects were created on the distal femoral heads of each animal using trephine drill. The defects were filled with each agents with accompanying graft materials as experimental groups and particulate cortico-cancellous autogenous graft as control. For histomorphometric analysis, fluorescent dye was injected at 2week and 1week before sacrifice. Then, the animals were sacrificed at 2, 4 and 8weeks after surgery and histologic and histomorphometric examinations were achieved.

At two weeks after bone graft, bone formation and active remodeling process were examined in all experimental groups and the control. But the intensity of such activities of the experiments were somewhat weaker than that of the control.

In BMP group, the amount of newly formed osteoid was increased constantly and the amount was preserved constantly in PRP group. But in P-15 group, the amount of newly formed osteoid was decreased with time to 8week after surgery. Histologic findings showed superior bony quantity and quality in PRP group than that of P-15 group. MAR(Mineralization Apposition Rate) of all experimental groups were slower than that of control group. In P-15 group, constant foreign body reaction was observed at all periods and the graft material showed inwardly destroyed characteristics rather to mature.

The data from this study provide the basis for future studies for evaluating the long-term remodeling process and foreign body reactions observed in P-15 group and clinical study for predictable use of these agents.

### I. 서 론

근래에는 악안면 골결손부를 회복시킬 때 형태적인 회복과 더불어 기능적인 면이 강조되고 있고 특히 임플란트 술식의 발달로 저작기능의 조기회복을 위해 임플란트 식립에 유리한 양호한 질과 형태를 가진 골형성의 유도가 중요하게 되었다. 이에 따라 골형성을 증진시킬 수 있게 하는 여러 방법들, 예를 들어 이식부 세포들을 빠르게 이주시키고 이주된 세포들을 골형성세포로 분화시키며 이러한 세포들이 강한 활성을 띠도록 유도하는 방법들이 이용되고 있다.

이중 잘 알려진 것이 성장인자를 이용하는 방법인데 특히 골 발생과 치유에 강한 작용을 하는 골형성단백질(BMP, Bone Morphogenetic Protein)을 골이식부에 여러 가지 담체(carrier)와 함께 이식하는 방법이다. Urist에<sup>1,2)</sup> 의해 BMP의 골유도효과가 입증되었고 Wozney등<sup>3)</sup>이 재조합 BMP를 만들게 됨으로써 임상에 적용하는 단계에 이르렀다. BMP는 간엽세포를 골형성세포로 분화시키며 골아세포에 대한 화학주성 및 분열증진 작용이 있어 골형성을 촉진시킨다. Wang등은<sup>4)</sup> 소에 대한 실험에서 BMP의 농도를 증가시킴으로써 골형성 속도가 증가된다고 보고하였으며 고농도에서는 술후 5일째부터 신생골이 관찰되었다고 하였다. Toriumi등은<sup>5)</sup> 개의 분절골결손에 인간재조합 BMP(rh BMP, recombinant human BMP)를 이식하였을 때 골기질만을 이식한 경우에 비해 빠르게 골형성이 일어남으로써 조기에 기능을 회복시킬 수 있다고 보고하였고 특히 이식 후 3-6개월 사이에 신생골의 기계적 강도가 급격히 증가한다고 하였다. Li등은<sup>6)</sup> 동물실험에서 분절골결손부에 rhBMP-2를 이식하였을 때 조직학적으로 신생혈관화-세포분화-미성숙해면골형성의 뚜렷한 세 단계를 보

신민철

130-702, 서울특별시 동대문구 회기동

경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Min-Cheol Shin

Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Dental College, Kyung-Hee University.

Hoegi-dong, Dongdaemun-gu, Seoul, 130-702, Korea

Tel : 82-2-958-9440 Fax : 82-2-966-4572

E-mail : smcmang@hanmail.net

이는 골발생이 일어났다고 보고하였다. Howell등은<sup>8)</sup> 흡수성 교원질을 담체로 한 rhBMP-2가 국소적, 전신적으로 안전하며 조작성이 쉽고, 임상적으로 치조제증강술과 발치와 보존을 위해 이식하였을 때 모든 환자에서 4주째부터 임상적으로 적절한 강도를 나타내었고 재형성소견이 관찰되었으며 치조제의 높이가 유지되었다고 보고하였다. 또 rhBMP-2의 농도가 증가할수록 이러한 골형성반응이 조기에 나타났다고 하였다. Boyne등도<sup>9)</sup> 상악동 이식술에 rhBMP-2를 적용하였을 때 방사선학적 및 조직학적으로 성공적인 골발생을 관찰함으로써 골대체제로서 성공적으로 이용될 수 있다고 보고하였다.

한편 BMP 이외에도 여러 가지 성장인자들을 이용하여 골재생을 촉진시키는 방법들이 시도되어 왔다. 조병도등은<sup>10)</sup> 세포배양 실험에서 혈소판유래성장인자(PDGF, Platelet Derived Growth Factor)의 투여가 치주인대세포와 골수세포의 증식을 빠르게 하며 세포부착도 빠르게 일어난다고 하였으며 PDGF가 치주인대 세포와 골수세포에 대해 단백질합성, alkaline phosphatase활성 및 세포증식 등에 영향을 주어 치주조직 재생을 위한 보조요법으로 사용될 수 있음을 보고하였다. 이석재와 신제원은<sup>11)</sup> PDGF가 치주인대 섬유아세포의 증식 및 기질분비를 향상시켜서 치조골재생이나 임플란트 식립 후 치유과정 촉진에 기여할 수 있을 것으로 보고하였다. 김현호와 이상철은<sup>12)</sup> 다양한 성장인자를 실험동물에 이식하고 초기 골치유과정을 연구한 결과 PDGF, TGF- $\beta$  및 IGF-I등이 세포증식과 세포부착을 현저히 향상시킴으로써 골 이식술이나 임플란트식립 후 초기 골치유의 안정성에 기여한다고 보고하였다. 한편 이러한 골재생과 관련된 성장인자들 즉, PDGF, TGF- $\beta$  및 IGF-I등이 가장 많이 존재하는 조직은 혈소판으로 알려져 있으며 따라서 고농도의 혈소판을 국소적으로 적용함으로써 골재생을 촉진시키고자 하는 방법이 임상적으로 이용되어 왔다. 박상일등은<sup>13)</sup> 세포배양시 혈소판풍부혈장(PRP, Platelet Rich Plasma)을 첨가하였을 때 초기 세포부착이 증가한다고 보고하였다. Landesberg등은<sup>14)</sup> PRP겔을 쉽게 제조하는 방법과 여기에 포함된 성장인자의 정량법을 보고하였다. 오지수등은<sup>15)</sup> 치근이 개부 골결손치료에 PRP를 이용한 결과 합성골을 단독으로 이식한 경우보다 증가된 골밀도를 관찰하였다고 보고하였으며 Wittkamp<sup>16)</sup>와 Hotz등은<sup>17)</sup> 치조제 증강술에 fibrin sealant와 수산화인회석을 복합이식하여 양호한 골재생을 관찰할 수 있었다고 하였다. Whitman등은<sup>18)</sup> 다양한 골이식술에 PRP를 적용한 증례를 보고하였고 Marx등은<sup>19)</sup> 골이식술시 PRP를 혼합하여 사용한 경우 골성숙도와 형성된 골량이 증가함을 방사선학적 및 조직형태측정학적으로 증명하였다. Tayapongsak등은<sup>20)</sup> PRP를 골이식술에 이용함으로써 골형성이 약 50% 빠르게 완성되었다고 보고하였다.

BMP를 포함한 성장인자를 이용하는 방법 이외에 세포의 활성화에 밀접한 연관이 있는 세포외기질도 골재생을 촉진하기 위해 이용되고 있다. 세포외기질은 세포의 비계(scaffold)로서 만이 아니라 세포의 이주, 분화 및 부착 등에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데 골기질의 대부분을 차지하는 제 1형 교원질도 골형성세포의 이주, 증식, 분화 및 활성화에 중요한 작용을 하며 특히 세포가 부착하는 부위는 교원섬유의 일부 활성화 도메인인 것으로

밝혀졌고 이 세포부착부위가 합성되어 이용되고 있다<sup>21-23)</sup>. Bhatnagar등은<sup>22,24)</sup> 이러한 합성펩타이드(P-15)를 우골광물에 부착하였을 때 간엽세포들이 골형성세포로 분화하는 것을 관찰하였고, Qian등은<sup>25)</sup> 이러한 합성체가 세포부착을 증가시킬 수 있다고 하였다. 임상적으로 Yukna등은<sup>26-28)</sup> 이러한 복합이식체를 치주 골결손부에 사용함으로써 우수한 골재생이 관찰되었다고 보고하였다. 또 Krauser등은<sup>29)</sup> 상악동골이식술에서 P-15과 우골광물을 복합이식 하였을 때 우골광물과 탈회동결건조골을 복합이식한 경우보다 신생골 형성이 빠르고 양호하게 나타나는 것을 방사선학적 및 조직형태측정학적으로 증명하였다.

이에 본 연구에서는 다양한 골형성 증진제들중 골형성단백질, 혈소판풍부혈장 및 합성펩타이드를 골이식재와 함께 이식하고 골형성의 결과를 자가골이식의 결과와 조직형태측정학적으로 분석하여 이들 재료의 임상적용에 있어 실험적인 근거를 제공하고자 한다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

#### 1) 실험동물

실험동물은 동일조건에서 사육된 체중 3-4kg 내외의 가토 6마리를 이용하였다.

#### 2) 골이식재

##### ① 자가골이식재

자가골은 골이식을 위한 결손부 형성시에 얻어진 골을 bone rongeur를 이용하여 약 1-2mm 크기로 분쇄한 입자피질망상골(particulate cortico-cancellous bone)의 형태로 이용하였다.

##### ② 골형성단백질

골형성단백질은 실험동물과 같은 종의 토끼에서 추출한 crude BMP와 비교원성단백질(NCP, Non-Collagenous Proteins)의 복합체를 토끼의 골기질에 흡착시킨 형태로서 한국조직은행(Seoul, Korea)에 주문제조하였으며 500 $\mu$ m 이하의 입자크기를 가지고 있다.

##### ③ 혈소판풍부혈장

혈소판풍부혈장은 실험 전 실험동물에서 채혈하여 제조하였으며  $\beta$ -TCP( $\beta$ -tricalcium phosphate)인 Cerasorb<sup>®</sup>(Curasan, Germany)에 제조된 혈소판풍부 혈장을 흡수시켜서 이식하였다. 혈소판풍부혈장(PRP, Platelet Rich Plasma)의 제조는 여러 문헌에 소개된 방법<sup>13-15,18-20)</sup>을 참고하여 혈소판농축율이 가장 좋은 방법을 실험적으로 구하여 이용하였다. 수술전 실험동물의 전혈 20cc를 채취하고 1100rpm으로 15분간 원심분리하여 이중 상부의 혈소판감소혈장층(PPP, Platelet Poor Plasma)과 buffy coat층만을 채취한다. 채취된 혈장층과 buffy coat층을 다시 3500rpm으로 15분간 원심분리하고 하방의 혈소판풍부혈장층을 채취하여 이용하였

다. 골이식체인 Cerasorb®는 단상(monophase)의  $\beta$ -TCP로서 150-500 $\mu$ m의 입자크기를 가지고 있다.

④ 합성펩타이드

합성펩타이드(P-15)를 우골광물(bovine bone mineral)에 유기적으로 결합시킨 형태의 골이식체인 PepGen P-15®(Dentsply, USA)을 이용하였으며 이는 250-420 $\mu$ m의 입자크기를 가지고 있다.

2. 연구방법

1) 동물실험

실험동물을 Zoletil®(Virvac, France)을 0.2mg/kg의 용량으로 근주하여 전신마취 시키고 좌우측 대퇴골 원심 과두부의 털을 깎고 통법의 소독을 시행한 후 절개부에는 지혈을 위해 1:100,000에피네프린을 함유한 2% 리도카인을 피하주사하였다. 이후 슬관절 측면의 절개를 통해 양쪽 대퇴골 원심 과두부를 노출시켰으며 수술부의 골막만을 최소한으로 절개하고 박리하도록 주의하였다. 이후 trephine drill을 이용하여 좌우 과두부의 내외측 모두 네 곳에 직경 5mm, 깊이 약 5mm의 원통형 골결손부를 형성하였다. 여기에 준비된 골이식체를 다음과 같이 실험군과 자가골이식군으로 이식하였다.

- 자가골이식군 : 자가 입자피질망상골
- 제 1군 BMP군 : BMP/NCP 복합체
- 제 2군 PRP군 : Cerasorb®와 혈소판풍부혈장
- 제 3군 P-15군 : PepGen P-15®

BMP와 PepGen P-15®은 이식전 생리식염수에 10분간 적신 후 골결손부에 충전하였고, PRP는 Cerasorb®에 혈소판풍부혈장을 10분간 흡수시켜서 충전하였으며, 자가골이식군은 골결손부 형성시 채취된 자가골을 이용하였다. 골이식 후 골막을 포함한 층별 봉합을 시행하고 술 후 감염을 예방하기 위하여 Lincocin을 10mg/kg의 용량으로 3일간 근주하였다.

2) 생체염색

골의 성장속도 및 형성된 양을 형광현미경으로 관찰하기 위해 희생 2주전과 1주전에 Alizarin red S(Sigma, St. Louis, USA)를 각각 20mg/kg의 용량으로 근주하였다.

3) 실험동물의 희생

골이식후 2주, 4주 및 8주째에 각각의 동물 두마리씩을 마취제를 과량 투여 하여 희생하고 이식부를 포함한 골괴를 제거하여 표본을 제작하였다.

4) 조직표본 제작

골괴는 적출 직후 70% ethanol에 고정하였으며 이를 다시 탈수를 위해 1시간 동안 진공상태를 유지시킨 후 24시간 동안 4℃에 보관하고, 95% ethanol과 100% ethanol을 순서대로 침투시킨 후

24시간 동안 냉장보관 하였으며 이상의 과정을 6회 반복하였다. 탈수가 끝난 후 조직을 methylmethacrylate(MMA)용액에 넣어 침투시켜서 48시간동안 냉장보관 하고 이후 조직을 새로운 MMA 용액으로 침투시키고 48시간 동안 냉장보관 하였다. 모든 용액의 침투 시에는 1시간 동안 진공상태를 유지하여 침투를 용이하게 하였다. MMA용액의 침투가 끝난 후 조직의 포매를 위하여 5ml의 MMA용액에 조직을 넣고 50 $\mu$ l의 JB-4 embedding kit component B를 첨가하여 10분간 진공상태를 유지하였고 질소가스를 주입한 후 실온(24-28℃)에서 24시간 동안 활성화시켜 플라스틱 블록을 제작하였다. 제작된 블록은 경조직 절삭기(Jung polycuts, Reica Instruments Co., USA)를 이용하여 10 $\mu$ m 두께의 표본을 제작하였다.

5) 조직형태측정학적 관찰

염색하지 않은 절편으로 형광현미경과 반자동화상분석 시스템(Bioquant, R&M Biometrics, Nashville, TN, USA)을 이용하여 골형성양과 속도, 골양조직의 형성 및 MAR(Mineral Apposition Rate) 등 신생골조직의 동적인 변화를 분석하였다. 골양조직과 신생골의 형성량을 정량적으로 측정하기 위해 반자동화상분석 시스템을 이용하여 10곳 이상에서 무작위로 측정된 값들의 평균을 구하였다. 또 세포의 형태관찰을 위해 Goldner's modified Masson trichrome법으로 염색한 절편을 광학현미경으로 검경하였다.

III. 연구결과

1. 조직학적 소견

1) 2주군 (Fig 1)

· 자가골이식군

이식골 주변의 섬유화가 진행되고 있었으며 이식골편사이와 이식골-섬유화 사이로 왕성한 파골세포의 활동이 관찰되었다. 부위에 따라 골편사이로 조골세포의 활성화도 활발히 관찰되었고 이식골편과 섬유화 사이에서 긴밀한 연결을 관찰할 수 있었으며 해면골 중심으로 조골세포의 활동이 활발하였고 골양조직(osteoid seam)의 형성도 명확하게 보였다. 신생골과 기존골과의 이행부위가 관찰되었으며 일부에서는 연골골성화생(chondro-osseous metaplasia)도 관찰되었다.

· BMP군

연골골성화생(chondro-osseous metaplasia)이 심하게 일어나 있었으며 기존 해면골과 연결되는 부위는 재형성과정(remodeling process)이 활발히 일어나고 있었다. 기존골에서도 조골 및 파골세포의 왕성한 활동을 관찰할수 있었다.

· PRP군

이식체 주변에 신생골이 형성되어 있었고 파골세포에 의한 재형성과정(remodeling process)이 활성화되어 있었다. 골형성과 재형성과정(remodeling process)이 P-15군에 비해 더 활발히 진행되고 있음을 관찰할수 있었다.

**Table 1.** Thickness of Osteoid Seam( $\mu\text{m}$ )

group time(wks)	control	BMP	PRP	P-15
2	10.14	7.72	7.39	9.25
4	6.35	8.02	9.69	8.54
8	20.25	10.36	8.59	4.46

· P-15군

주변부위에 심한 섬유화 부분이 관찰되었으며 이물반응이 관찰되었고 조골세포가 변연부를 피복하고 있었으며 소주골 주위에 섬유성골성조직화생(fibro-osseous metaplasia)이 일어나고 있었다. 이식체 주변으로는 일부 골형성이 시작되고 있었다.

2) 4주군 (Fig. 2)

· 자가골이식군

주위 파골세포에 의한 재형성과정이 활발하게 일어나고 있었으며 이식골편 주위 표면에 파골세포에 의한 흡수가 활발히 일어나면서 활성화된 조골세포의 피복층을 골양조직표면에서 관찰할 수 있었다.

· BMP군

2주째 소견과 유사하며 연골조직 사이로 골형성이 되고 있었으나 별차이점은 없었다.

· PRP군

골형성이 P-15보다 더 많이 되어 있었고 치밀한 구조물반응을 보였다.

· P-15군

2주째 보다 골형성이 많이 진행되어 있었으며 표면 파골세포와 조골세포가 많이 활성화 되어 있었다. 이물반응이 활발히 일어나고 있었다.

3) 8주군 (Fig. 3)

· 자가골이식군

이식골편은 관찰되지 않았으며 기존의 해면골과 같은 양상의 신생 해면골로 구성되어 있었다.

· BMP군

4주째와 별다른 차이를 보이지 않고 있었다.

· PRP군

주변으로 골형성이 잘 유발되고 있었으며 서로 연결되어 가고 있었고 골의 질과 양이 모두 정상의 해면골과 유사하게 관찰되었다.

**Table 2.** Mineral Apposition Rate( $\mu\text{m}/\text{day}$ )

group time(wks)	control	BMP	PRP	P-15
2	3.34	2.60	2.48	2.21
4	3.55	2.52	2.70	2.34

· P-15군

주변골 골형성이 잘 발생되었음이 관찰되었고 소주골 형성과 주변골의 재형성이 많이 진척되어 있었다. 다소 푸석푸석한 느낌이었고 골이 성숙되기 보다는 내부로 부서지고 공간이 남는 재료적 특성이 관찰되었다.

2. 조직형태측정학적 분석

1) 신생골양조직 형성

신생골양조직의 형성 정도는 실험군에서 2주째 P-15군이 9.25  $\mu\text{m}$ 로 가장 많은 형성량을 보였고 BMP군과 PRP군은 서로 비슷한 양상을 보였다. 4주째에는 PRP군이 모든 군에서 가장 많은 9.69  $\mu\text{m}$ 를 나타내었고 BMP군과 P-15군도 자가골이식군에 비해 많은 형성량을 보였다. 8주군에는 BMP군이 10.36  $\mu\text{m}$ 로 PRP군(8.59  $\mu\text{m}$ )과 P-15군(4.46  $\mu\text{m}$ )에 비해 높은 신생골양조직 형성량을 보였다 (Table 1).

2) 광화속도(MAR, Mineral Apposition Rate)

MAR의 경우 2주와 4주째에 BMP군과 PRP군이 서로 유사한 광화속도를 보였고 P-15군은 다소 느린 광화속도를 보였으며 모든 시점에서 자가골이식군의 광화속도가 가장 빠른 것으로 측정되었다(Table 2).

IV. 총괄 및 고찰

구강악안면영역의 골결손부에 대한 형태적, 기능적 수복을 위한 방법으로서 골이식술은 오랜기간 이용되어 왔고 상당히 예지성이 높은 술식으로 자리잡고 있다. 골이식술에 사용되는 이식재는 숙주와의 관계에 따라 자가골, 동종골, 이종골 및 이물성형 재료로 나눌 수 있으며 다양한 재료들이 현재에도 개발되고 있다. 이러한 이식재는 생체에 이식되었을 때 정상골과 유사한 질과 양을 가진 골을 재생할 목적으로 변형되거나 조작되어 개발되고 있으며 또한 제조가 용이하고 쉽게 이용가능하며 비용이 저렴한 골이식재로서의 요구조건을 만족시키고자 한다.

골이식후 생체내에서는 골발생(osteogenesis), 골유도(osteoinduction), 골전도(osteoconduction)등의 기전이 단독 또는 복합적으로 발생하여 새로운 골을 형성하게 된다<sup>30-32)</sup>. 다양한 이식재료가 현재까지 이용되어 왔으며 이러한 이식재료는 위의 세가지 기전 중 적어도 하나 이상의 기전을 유도할 수 있는 능력이 있다.

골이식재의 작용기전은 재료의 형태와 구성성분에 따라 달라진다<sup>30</sup>. 자가골은 골발생, 골유도, 골전도의 세가지 기전을 모두 유발하며 동종의 피질골이나 해면골은 골유도와 골전도를 일으키며 천연 또는 합성의 이물성형재료들은 일반적으로 골전도성의 재료들이다<sup>33</sup>. 이러한 골형성 기전의 결과로 숙주골과 이식체는 융합되고 숙주골과 유사한 성질을 갖는 골이 형성된다. 가장 이상적인 결과는 이식체가 완전히 흡수되고 대신 숙주골과 같은 성질의 골로 대체되는 것이다. 골이식재의 골형성능을 비교하였을 때 자가골이 가장 이상적인 이식재로 생각되고 있으나 채취할 수 있는 골량이 제한되고 부가적인 수술이 필요한 단점으로 인해 동종골, 이종골 또는 이물성형재를 이용하게 되며 이러한 이식재들은 자가골에 비해 상대적으로 골형성 효과가 약하기 때문에 여러 가지 골형성 증진법들이 모색되고 있다. 특히 최근에는 임프란트의 발전으로 인하여 저작기능의 회복이 이전에 비해 월등히 향상될 수 있고 이에 따라 임프란트 식립부로서 결손부의 질적, 양적인 골재생이 중요하게 되었으며 초기에 이러한 목적을 달성하기 위해서 보다 빠르게 양질의 골을 재생시키려는 시도가 계속되고 있다.

골형성 증진을 위한 다양한 방법중 가장 대표적인 것이 골형성 단백질(BMP, Bone Morphogenetic Protein)을 포함한 성장인자들을 이용한 방법이다.

BMP는 Urist<sup>41</sup>에 의해 그 존재와 골형성유도 효과가 알려진 이후 별 발전이 없었으나 Wozney 등이<sup>42</sup> molecular cloning을 이용한 방법으로 재조합 BMP를 만들게 됨으로써 실험적으로나 임상적으로 다양하게 이용되고 있다. BMP는 현재 1번에서 13번까지 발견되었고 그 분자구조의 유사성으로 인해 BMP2에서 BMP9까지는 TGF- $\beta$  대가계(superfamily)의 하위그룹을 형성하고 있다<sup>43,46</sup>. 개개 BMP의 기능은 각기 다르지만 2번에서 9번까지는 골유도성이 있는 것으로 밝혀졌으며 특히 7번, 8번은 강한 골유도성을 보여 골형성단백질(osteogenic protein)으로도 불린다. 본 연구에 사용된 BMP는 재조합된 특정 BMP는 아니며 초기에 이용되었던 crude BMP와 여러 가지 골기질내 비교원성단백질(NCP)의 복합체이다.

일반적으로 BMP는 생체내 간엽세포들을 골세포 또는 연골세포의 표현형으로 분화시키며 골아세포성 세포들에 대한 화학주성작용도 있어 이식부로 세포들이 유입되는데 도움을 주는 것으로 알려져 있고 세포분열을 촉진시키는 작용도 있어서 결과적으로 골형성을 빠르게 하는 역할을 한다<sup>39</sup>.

악안면영역에서의 적용에 관한 보고들도 다양한데 Toriumi 등은<sup>6</sup> 개의 하악골 결손에서 인간재조합BMP2(rhBMP2)를 이용한 재건술시 식립후 4주째 명확한 신생골이 관찰되었다고 보고하였다. Li 등은<sup>7</sup> rhBMP2를 이용한 하악골재건술에서 연골의 형성 없이 막내골이 형성되었다고 보고하였고 Wang 등은<sup>37</sup> 1990년 연골유도성 골화에 대해 보고함으로써 BMP가 막내골화 및 연골내골화의 과정을 모두 유도할 수 있다는 사실을 입증하였고 골형성의 시기는 BMP의 용량뿐 아니라 BMP의 유래(source)와 순도, 알지 못하는 성장인자의 존재, 식립부의 위치, 실험동물의 종류, 전달체계(delivery system) 등에 따라 달리 나타난다고 하였다.

Wang 등의<sup>5</sup> 실험결과 소의 BMP에서 용량이 증가되면 골형성이 가속되고 또는 최소한 골이 출현하는 시기까지의 기간이 단축된다고 하였다. 본 연구에서도 2주군에서 골형성 및 연골형성이 관찰되었으며 골양조직형성과 MAR의 수치를 기준으로 자가골이식군과 비교할 때 전반적으로 자가골이식군이 더 높은 골형성과정을 보이고 있으나 BMP군의 경우도 지속적으로 자가골이식군과 유사한 양상을 보이고 있고 2주째부터 지속적으로 재형성과정(remodeling process)을 관찰할 수 있어 왕성한 골재생을 보였다.

혈소판풍부혈장(PRP, platelet-rich plasma)은 다양한 성장인자를 함유하고 있다는 사실로 인해 조직의 치유촉진을 위해 이용되어 왔다. 혈액내 피브린과 혈소판의 조직치유 및 접착안정효과를 이용한 fibrin sealant<sup>38,40</sup>가 PRP의 유래가 되었고 주로 연조직의 치유증진에 이용되었으며 최근에는 골재생을 촉진할 목적으로 널리 이용되고 있다<sup>17,20,42</sup>. 1985년 Matras는<sup>40</sup> fibrin sealant를 이용해 구강악안면영역에서 신경문합, 연조직결손부의 지혈, 피부이식체의 고정 및 골결손부의 충진등 임상적용례를 보고하였고 이의 효과는 농축된 응고인자와 fibronectin 같은 조절인자에 기인한다고 하였다. 이후 Hotz 등과<sup>17</sup> Wittkamp 등은<sup>16</sup> 치조제증강술에 산화인화석과 fibrin sealant를 혼합하여 사용함으로써 이식재의 고정과 골대체재로서의 장점에 대해 보고한 바 있다. 1994년 Tayapongsak 등은<sup>20</sup> 혈소판풍부혈장과 입자망상골(PCBM)를 이용한 하악골재건술에서 재형성과정이 약 50% 정도 빨리 완성된다고 보고하고 이러한 효과는 PRP의 접착성과 지혈작용 및 fibronectin과 교원질, 피브린, 응고인자 XIII, 트롬빈등 여러 구성요소 간의 작용결과로 기질이 간엽세포의 이주를 유도하기 때문이라고 하였다. 이후 Marx 등이<sup>19</sup> 구강악안면영역의 골이식에 PRP를 이용하는 것을 소개하였고 PRP를 이용함으로써 보다 신속된 골이 형성되었음을 방사선적 및 조직계측학적으로 규명하였으며 PRP의 사용이 골형성속도를 증가시키고 최종적으로 형성된 골의 양을 증가시킨다고 하였다. 또 Whitman 등은<sup>18</sup> 하악골재건술, 치조열수술, 구강비강/구강상악동누공수술 및 임프란트수술등에 PRP를 적용한 임상례를 보고하기도 하였다. 오지수 등은<sup>15</sup> 치근이개부 결손부 치료에 합성골과 PRP를 복합이식한 후 방사선검사상 골재생이 합성골만을 이용한 경우보다 유의성있게 향상된다고 하였고 박상일 등은<sup>13</sup> PRP가 세포배양시 조골세포의 초기부착을 증진시킨다고 보고하였다.

이전에 이용되었던 fibrin sealant와 PRP의 차이점은 PRP가 정상적인 피브린 농도를 유지하면서 고도로 농축된 혈소판을 포함하고 있다는 것이다<sup>18</sup>. PRP가 골이식에 이용되는 근거는 다양한 성장인자가 포함되어 있다는 사실 때문이며 대표적인 성장인자는 혈소판유래성장인자(PDGF, platelet-derived growth factor)와 전환성장인자-베타(TGF- $\beta$ , transforming growth factor- $\beta$ )이다. 그 외에도 인슐린유사성장인자(Insulin-like growth factor), 상피성장인자(Epidermal growth factor), 섬유아세포성장인자(Fibroblast growth factor) 및 골형성단백질등도 포함되어 있다<sup>43</sup>. PDGF는 혈소판, 대식세포 또는 혈관내피세포에서 생성되며 조직손상시 혈소판이 활성화 되면 혈소판내 입자에서 분비되고 표적세포의 세포막 수

용기에 결합하여 세포의 특이활성을 유발하는 것으로 알려져 있다<sup>44,45</sup>. 중요한 특이활성은 간엽세포와 조골세포의 분열, 조골세포 분화, 혈관신생 및 대식세포의 활성화 등이다<sup>12,19,46</sup>. 이상철은<sup>46</sup> PDGF와 무기질골을 함께 이식한 경우 무기질만을 이식한 경우에 비해 골형성과 재형성과정이 우수함을 보고한바 있고 김현호와 이상철은<sup>12</sup> 임프란트 이식시 PDGF가 초기골치유과정의 안정성에 기여한다고 보고하였다. 또 조병도등<sup>10</sup> 및 이석재와 신제원<sup>11</sup>은 세포배양을 통해 PDGF가 치주조직의 재생에 유효함을 실험적으로 입증하였다. TGF- $\beta$  역시 혈소판, 대식세포 및 몇몇 세포들에서 생성되고 혈소판에서 분비된 후 부분비성(paracrine) 성장인자로서 작용하며 주로 섬유아세포, 전구조골세포 및 골수간엽세포에 작용한다<sup>39</sup>. 이러한 세포들 역시 TGF- $\beta$ 를 분비하고 이때는 부분비성 및 자가분비성(autocrine)의 작용으로 창상치유 및 골재생을 지속시키는 역할을 하고 골의 재형성에 관여한다<sup>47,48</sup>. TGF- $\beta$ 의 가장 중요한 역할은 전구조골세포에 대한 화학주성을 가지고 세포분열을 유도하는 것이며 조골세포의 교원질분비를 자극하는 기능을 하고 파골세포의 생성과 흡수를 억제함으로써 두가지의 기전을 통해 골형성을 흡수보다 우세하게 유지시키는 것이다<sup>47,48</sup>.

PRP의 제조에 관해서는 다양한 방법이 소개되어 있으며<sup>10,13,15,18,19,38,40</sup> 본 연구에서는 이들 방법을 참고하여 실험적으로 혈소판의 농축률이 가장 우수한 방법을 구하였고 평균 300%의 혈소판 농축을 얻을 수 있었다. 연구결과에서 PRP군의 2주째 소견상 신생골이 관찰되며 재형성이 활발히 일어나서 진행되고 있고 8주째에는 신생골과 숙주골 그리고 신생골사이의 결합이 관찰되는 등 골질과 골량이 있어서 자가골이식군과 유사하게 정상 해면골의 형태를 띠어 양호한 골재생과정을 보여주고 있다. 한편 본 연구에서 PRP와 함께 이식된 이식재로서 Cerasorb는  $\beta$ -TCP로서 상악동거상술<sup>50</sup>, 임프란트식립등<sup>51</sup> 치과영역에서의 사용에 대해 보고된 바 있다. 이 재료는 생체 식립후 12-18개월경에 완전히 흡수되어 골전도물질로서 적합한 성질을 보이며<sup>51</sup> 본 연구와 같이 조기에 골을 형성할 수 있는 PRP와 같은 재료들과 이용한다면 양호한 임상적 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 본 연구에서는  $\beta$ -TCP만을 이식한 실험군이 없기 때문에 이러한 결과가 PRP의 효과인지는 확실치 않으며 PRP의 첨가유무에 따른 골형성효과에 대한 실험이 필요할 것으로 생각된다.

BMP나 PRP와 같이 세포의 분열과 분화를 유도하여 골형성을 촉진하는 과정과 유사하게 세포외기질을 이용할 수 있는데 제1형 교원질의 세포부착부를 합성한 P-15이 그 예이다. P-15은 제1형 교원질 1사슬의 구조에서 세포가 부착하는 특정부분(766번에서 780번 아미노산)을 합성하여 만든 합성펩타이드이다. 조직내에서 세포간, 세포와 세포외환경간의 화학적, 기계적 신호의 흐름은 세포의 분화와 형태형성에 결정적인 역할을 하는데 제1형 교원질은 세포고정과 이동을 위한 비계(scaffold)로서 작용하며 고도로 분화된 수용기를 통해서 이러한 조절신호들을 중계하고 세포들은 이러한 신호에 대해 성장인자를 분비하고 세포외기질을 재개조함으로써 반응한다<sup>21,22,24</sup>. 세포가 부착하는 위치는 제1형 교원질의 삼중나선구조중 1사슬의 일부 아미노산으로 이루어

어진 활성도메인인 것으로 밝혀졌고<sup>25,32,53</sup> 이는 fibronectin의 세포부착도메인인 RGD사슬에 비해 세포부착 성향이 매우 강한 것으로 알려져 있다<sup>14,49</sup>.

세포의 성장과 분화는 세포고정에 의해 유도되며 세포외기질은 세포의 삼차원적 고정을 제공하고 이러한 과정을 통해 세포와 세포간 그리고 세포와 세포외기질간의 상호작용이 가능하며 cytokine의 국소적 농도를 조직형태형성에 필요한 농도까지 높일 수 있게된다<sup>21</sup>. P-15은 교원질의 유사체로서 이러한 세포고정을 유도하며 교원질과 유사하게 세포의 부착과 이동에 유기적인 방향성을 갖게 하고 세포질골격(cytoskeleton)을 통해 세포분화에 결정적 역할을 한다고 알려진 기계적 힘(mechanical force)을 전달하여 세포분화를 일으킨다<sup>54,55</sup>.

Qian등은<sup>25</sup> 이 활성도메인의 유사체인 합성펩타이드 P-15을 합성하고 이를 우골광물에 부착하였을 때 피부섬유아세포의 부착이 증가함을 세포배양실험을 통해 입증하였다. Bhatnagar등은<sup>22,24</sup> 수산화인회석표면에 P-15를 부착하였을 때 피부 및 치은섬유아세포와 골아세포성세포가 모두 골형성세포로의 분화를 나타내고 고도의 방향성과 유기적 연결을 보이는 기질을 분비함에 따라 생체모방성 조직공학의 가능성을 제시하였다. 한편 Yukna등은<sup>26,27</sup> 치주골결손부에 비유기성골기질(ABM, anorganic bone matrix)과 P-15의 복합체를 이식하였을 때 탈회동결건조골(DFDB)이나 ABM을 이식하였을 때보다 골재생이 우수함을 보고하였다. Lallier등은<sup>56</sup> 치주인대 섬유아세포의 배양시 다양한 이종골에 P-15을 부착한 경우 치주인대 섬유아세포의 부착속도가 증가하나 안정된 부착이나 세포분열을 증가시키지는 못하여 치주조직재생의 관점에서는 효과를 인정하지 않았다. 본 실험에서는 2주군에서 골형성이 관찰되며 재형성과정도 관찰되었으나 그 정도는 자가골이식군 및 다른 실험군에 비해 다소 떨어지는 듯한 양상을 보였다. 또한 다른 재료와는 달리 이물반응이 활발하게 관찰되었는데 이는 이종의 골광물을 이용한 결과로 생각되며 특히 8주군에서는 골이 성숙되기 보다는 입자내부가 부서지고 공간이 남는 재료적특성을 보여주며 골자체의 성숙도가 다른 군에서보다 다소 떨어지는 양상을 보였다.

본 연구결과 신생골양조직의 형성량을 보면 골형성 초기인 2주군에서는 P-15군이 BMP군과 PRP군에 비해 다소 높은 형성량을 보였고 이후 BMP는 점진적으로 8주까지 증가하는 양상을 보이며 P-15군의 경우 4주째 다소 감소하다가 8주째는 현저히 감소한 소견을 보인다. 또 PRP군의 경우는 8주째까지 지속적인 골양조직형성을 보이고 있다. 이러한 결과로 P-15가 이식 후 초기에는 조골세포의 강한 활성을 유도하지만 재형성이 지속되면서 그 효과가 급격히 감소하는 반면 BMP와 PRP는 초기에는 P-15에 비해 조골활성 효과가 다소 미약하나 재혈관화가 일어나는 4주 이후에도 지속적으로 유지되는 특성을 알 수 있었다. 한편 4주째 소견에서는 자가골이식군이 실험군에 비해 골양조직형성양이 적은 것으로 추정되었다. 일반적으로 자가골이식체의 경우 이식 후 4주까지는 이식체에 포함된 조골세포의 활성으로 골양조직이 형성되며 2주째부터 시작되어 6주이후에 최대활성을 나타내는 골유도에 의해 골형성이 지속된다고 한다<sup>30</sup>. 따라서 이러한

결과가 이러한 활성의 주기에 따른 것이라고 추정해 볼 수는 있으나 실험과정이나 표본제작상의 오류등을 배제할수 없고 향후 보완된 실험모델을 통한 검증이 필요하리라 생각된다.

또한 MAR은 개개 조골세포의 활성도보다는 전체 조골세포의 수와 비례한다고 보고되고 있는데<sup>57)</sup> 본 연구 결과에서 자가골이식군의 경우는 2주와 4주군에서 모두 실험군에 비해 높은 수치를 보이고 있으며 이는 초기 이식골에 포함된 조골세포의 영향과 상대적으로 빠른 재혈관화에 따른 효과로 생각된다. 실험군 간에는 큰 차이는 없으나 P-15군에서 약간 낮은 수치를 보임으로써 골형성세포의 분화효과가 다소 미약함을 간접적으로 추정할 수 있다. 그러나 본 연구는 실험동물의 수가 적고 따라서 통계적 유의성을 갖지 못하기 때문에 보다 많은 실험모형을 통한 정량적인 관찰이 필요하리라 사료된다.

### V. 결 론

저자는 최근 임상에 적용되고 있는 골형성증진제들중 골형성 단백질, 합성펩타이드 및 혈소판풍부혈장을 가토의 골결손부에 골이식재와 함께 이식하고 골형성 결과를 조직형태측정학적으로 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 병리조직학적 소견에서 실험군과 자가골이식군 모두 2주째에 골형성이 관찰되었고 재형성과정도 활발히 관찰되었다.
2. 조직형태측정학적 소견에서 활성 조골세포의 양을 간접적으로 나타내는 신생골 양조직의 형성양은 BMP군의 경우 8주까지 지속적인 증가양상을 보였고 PRP군은 비교적 일정한 양상을 보였으나 P-15군의 경우 점차 그 양이 감소하는 경향을 관찰할수 있었다.
3. 조직학적 소견상 PRP군의 신생골이 P-15군에 비해 질과 양에서 우수하였고 P-15군의 경우 신생골이 성숙되기 보다는 이식재가 내부로 부스러지고 빈 공간이 남는 재료적 특성이 관찰되었다.
4. 모든 실험군에서 광화속도는 자가골이식군보다 느렸으나 실험군의 광화속도는 서로 유사하였다.

이상의 결론으로 사용된 이식재들의 골형성능은 자가골이식보다 우수하지는 못하나 조직학적으로는 자가골과 유사한 양호한 골형성 결과를 보여주었고 개체수가 적어 통계적 차이를 규명할수 없으나 실험군간 비교에서는 BMP군과 PRP군이 P-15군보다 골형성장상이 우수한 것으로 관찰되었다. 또 P-15군에서 관찰된 이물반응이나 지속적인 골재형성의 양태에 관해서는 장기적인 실험관찰이 요구되고 임상적인 연구가 병행됨으로써 이러한 골증진제의 효과에 대한 평가가 뒤따라야 할 것으로 사료된다.

### 참고문헌

1. Urist MR: Bone: Formation by autoinduction. *Science* 150:893-899, 1965.
2. Urist MR, Iwata H, Ceccotti PL et al: Bone morphogenesis in implants of insoluble bone gelatin(cell differentiation/osteogenesis/noncollagenous proteins). *Proc Nat Acad Sci USA* 70:3511-3515, 1973.

3. Urist MR, Mikulski A, Lietze A: Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein(cell differentiation/osteogenesis/noncollagenous protein). *Proc Nat Acad Sci USA* 76:1828-1832, 1979.
4. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ et al: Novel regulators of bone formation; molecular clones and activities. *Science* 242:1528-1534, 1988
5. Wang EA, Rosen V, Cordes P et al: Purification and characterization of other distinct bone-inducing factors(bone morphogenetic protein/bone formation). *Proc Nat Acad Sci USA* 85:9484-9488, 1988.
6. Toriumi DM, Kotler HS, Luxenberg DP et al: Mandibular reconstruction with a recombinant bone-inducing factor; functional, histologic, and biomechanical evaluation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 117:1101-1112, 1991.
7. Li XJ, Toriumi DM, Turek TJ et al: Healing of a canine critical-sized defect with an rhBMP-2/collagen implant involves de novo bone formation without chondrogenesis. *J Bone Miner Res* 11:S379, 1996.
8. Howell TH, Fiorellini J, Jones A et al: A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J Periodont Rest Dent* 17:125-139, 1997.
9. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M et al: A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodont Rest Dent* 17:11-25, 1997.
10. 조병도, 허익, 박준봉, 이만섭, 권영혁: 혈소판유래성장인자와 상피성장인자가 치주인대세포와 골수세포의 성장에 미치는 영향. *경희치대논문집* 18:189-207, 1996.
11. 이석재, 신제원: Platelet-derived growth factor와 insulin-like growth factor-I 이 치주인대 섬유모세포에 미치는 영향에 관한 연구. *대한구강해부학회지* 20:127-139, 1996.
12. 김현호, 이상철: 수종의 성장인자가 초기 골치유과정에 미치는 영향에 관한 연구. *대한구강악안면외과학회지* 23:581-596, 1997.
13. 박상일, 정진형, 임성빈, 김정근: 혈소판 농축혈장이 조골세포의 초기부착과 증식 및 활성에 미치는 생물학적 영향. *대한치주과학회지* 31:513-528, 2001.
14. Landeberg R, Roy M, Glickman RS: Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 58:297-300, 2000.
15. 오지수, 정진형, 임성빈: 2급 치근이개부 치료시 합성골 이식 및 혈소판농축혈장의 골재생효과에 대한 디지털 공제술의 정량적분석. *대한치주과학회지* 31:465-474, 2001.
16. Wittkamp ARM: Augmentation of the maxillary alveolar ridge with hydroxyapatite and fibrin glue. *J Oral Maxillofac Surg* 46:1019-1021, 1988.
17. Hotz G: Alveolar ridge augmentation with hydroxylapatite using fibrin sealant for fixation. Part II: Clinical application. *Int J Oral Maxillofac Surg* 20:208-213, 1991.
18. Whitman DH, Berry RL, Green DM: Platelet gel; an autologous alternative to fibrin glue with application in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 55:1294-1299, 1997.
19. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM et al: Platelet-rich plasma; growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85:638-646, 1998.
20. Tayapongsak P, O'Brien D, Monteiro CB et al: Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg* 52:161-165, 1994.
21. Bhatnagar RS, Qian JJ, Wedrychowska A et al: Construction of biomimetic environments with a synthetic peptide analogue of collagen. *Mat Res Soc Symp Proc* 530:43-54, 1998.
22. Bhatnagar RS, Qian JJ, Wedrychowska A et al: Biomimetic habitat for cells; ordered matrix deposition and differentiation in gingival fibroblasts cultured on hydroxyapatite coated with a collagen analogue. *Cells Mater* 9:93-104, 1999.
23. Hay ED: Extracellular matrix, cell skeletons, and embryonic development. *Am J Med Genetic* 34:14-29, 1989.
24. Bhatnagar RS, Qian JJ, Wedrychowska A et al: Design of biomimetic habitats for tissue engineering with P-15, a synthetic peptide analogue of collagen. *Tissue Engineering* 5:53-65, 1999.
25. Qian JJ, Bhatnagar RS: Enhanced cell attachment to anorganic bone mineral in the presence of a synthetic peptide related to collagen. *J*

- Biomed Mat Res 31:545-554, 1996.
26. Yukna RA, Callan DP, Krauser JT et al: 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.
  27. Yukna RA, Krauser JT, Callan DP et al: Multi-center clinical comparison of combination anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix(ABM)/cell binding peptide(P-15) and ABM in human periodontal osseous defects; 6-month result. *J Periodontol* 71:1671-1679, 2000.
  28. Yukna RA, Krauser JT, Callan DP et al: Thirty-six month follow up of 25 patients treated with combination anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix(ABM)/cell-binding peptide(P-15) bone replacement grafts in human infrabony defects: I. Clinical findings. *J Periodontol* 73:123-128, 2002.
  29. Krauser JT, Rohrer MD, Wallace SS: Human histologic and histomorphometric analysis comparing Osteograf/N with PepGen P-15 in the maxillary sinus elevation procedure; a case report. *Imp Dentistry* 9:298-302, 2000.
  30. Misch CE, Dietsh F: Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent* 2:158-167, 1993.
  31. Kale AA, Di Cesare PE: Osteoinductive agents; basic science and clinical applications. *Am J Orthop* 24:752-761, 1995
  32. Stevenson S: Enhancement of fracture healing with autogenous and allogenic bone grafts. *Clin Orthop Rel Res* 355S:239-246, 1998.
  33. Garg AK: Grafting materials in repair and restoration. In: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE eds. *Tissue Engineering*. 1st ed, Quintessence Publishing Co., Chicago, IL 1999.
  34. Celeste AJ, Iannazzi JA, Taylor RC et al: Identification of transforming growth factor $\beta$  family members present in bone-inductive protein purified from bovine bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:9843-9847, 1990.
  35. Özkaynak E, Schnegelsberg PN, Jin DF et al: Osteogenic protein-2; a new member of transforming growth factor-beta superfamily expressed in early embryogenesis. *J Biol Chem* 267:25220-25227, 1992.
  36. Celeste AJ, Song JJ, Cox K et al: Bone morphogenetic protein-9, a new member of the TGF-beta superfamily. *J Bone Miner Res* 9(suppl):S136, 1994.
  37. Wang EA, Rosen V, D' Alessandro JS et al: Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation(cartilage induction). *Proc Nat Acad Sci USA* 87:2220-2224, 1990.
  38. Matras H: The use of fibrin sealant in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 40:617-622, 1982.
  39. Wepner F, Fries R, Platz H: The use of fibrin adhesion system for local hemostasis in oral surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 40:555-558, 1982.
  40. Matras H: Fibrin seal; the state of the art. *J Oral Maxillofac Surg* 43:605-611, 1985.
  41. 허원실, 이상철: Butyl-Cyanoacrylate(Histoacryl<sup>®</sup>)와 Fibrin sealant(Tisseel<sup>®</sup>)를 이용한 피부이식시 조직치유에 관한 실험적 연구. *대한구강악안면외과학회지* 16:113-123, 1990.
  42. 하정완, 김수관, 조세인등: 혈소판 풍부혈장의 임상적 응용. *대한악안면성형재건외과학회지* 23:452-457, 2001.
  43. Greenlagh DG: The role of growth factors in wound healing. *J Trauma* 41:159-167, 1996.
  44. Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF: The biology of platelet derived growth factor. *Cell* 46:155-169, 1986.
  45. Antonides HN, Williams LT: Human platelet-derived growth factor: structure and functions. *Federation Proceedings* 42:2630-2634, 1983.
  46. 이상철: 골결손부에 Natural bone minerals(Pyrost<sup>®</sup>)의 골형성 유도에 관한 실험적 연구; 성장인자의 효과비교. *경희치대논문집* 13:823-830, 1991.
  47. Pierce GF, Vande Berg J, Rudolph R et al: Platelet-derived growth factor-BB and transforming growth factor beta1 selectively modulate glycosaminoglycans, collagen, and myofibroblasts in excisional wounds. *Am J Pathol* 138:629-646, 1991.
  48. Beck LS, DeGuzman L, Lee WP: One systemic administration of transforming growth factor-beta reverses age or glucocorticoid-impaired wound healing. *J Clin Invest* 93:2841-2849, 1993.
  49. Mohan S, Baylink DJ: Bone growth factor. *Clin Orthop Rel Res* 263:30-43, 1991.
  50. Szabó G, Suba Z, Hrabák K et al: Autogenous bone versus  $\beta$ -tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevations(2-and 3-dimensional computed tomographic, histologic, and histomorphometric evaluations); preliminary results. *Int J Oral Maxillofac Imp* 16:681-692, 2001.
  51. Merten HA, Wiltfang J, Grohmann U et al: Intraindividual comparative animal study of  $\alpha$ - and  $\beta$ -tricalcium phosphate degradation in conjunction with simultaneous insertion of dental implants. *J Craniofac Surg* 12:59-68, 2001.
  52. Bhatnagar RS, Qian JJ, Gough CA: The role in cell binding of a  $\beta$ -bend within the triple helical region in collagen  $\alpha$ 1(I)chain; structural and biological evidence for conformational tautomerism on fiber surface. *J Biomol Struct Dynamics* 14:547-560, 1997.
  53. Scaria PV, Sorensen KR, Bhatnagar RS: Expression of a reactive molecular perspective within the triple helical region of collagen. *Am Peptide Symp* 11:605, 1989.
  54. Ingber DE, Folkman J: Mechanical switching between growth and differentiation during fibroblast growth factor-stimulated angiogenesis *in vitro*. *J Cell Biol* 109:317-330, 1989.
  55. Watson PA: Function follows form; generation of intracellular signals by cell deformation. *FASEB J* 5:2013-2019, 1991.
  56. Lallier TE, Yukna RA, Marie S et al: The putative collagen binding peptide hastens periodontal ligament cell attachment to bone replacement graft materials. *J Periodontol* 72:990-997, 2001.
  57. Inoue N, Larsson S, Kim W et al: Bone histomorphometric responses under dynamic loading. *Trans Orthop Res Soc* 19:204-215, 1994.



## 사진부도 설명

Fig 1. Photomicrographs of control and experimental groups 2 weeks after surgery.( $\times 200$ , Goldner' s modified Masson trichrome stain)

- a. Control group. Photomicrograph shows normal bony healing process.
- b. BMP group. Photomicrograph shows a area of chondroosseous metaplasia.
- c. PRP group. Photomicrograph shows newly formed trabecules and active remodeling process. Osteoclasts are lined on the surface of graft materials.
- d. P-15 group. Photomicrograph shows remodeling procedure and fibroosseous metaplasia in some area.

Fig 2. Photomicrographs of control and experimental groups 4 weeks after surgery.( $\times 200$ , Goldner' s modified Masson trichrome stain)

- a. Control group. Photomicrograph showing high activity of remodeling process with osteoblastic lining upon newly formed osteoid.
- b. BMP group. Photomicrograph showing advanced bone formation between peviously formed cartilages.
- c. PRP group. Photomicrograph showing newly formed trabecules between graft materials with persisting remodling procedures.
- d. P-15 group. Photomicrograph showing advanced bone formation than previous specimen(2 weeks) and active foreign body reaction.

Fig 3. Photomicrographs of control and experimental groups 8 weeks after surgery.( $\times 200$ , Goldner' s modified Masson trichrome stain)

- a. Control group. Photomicrograph shows normal trabecular pattern.
- b. BMP group. Photomicrograph of BMP group at 8 week postoperation. There is no specific change compared with previous finding(4 weeks).
- c. PRP group. Photomicrograph showing more advanced bone formation areas interconnected each other.
- d. P-15 group. Photomicrograph showing characteristic appearance of graft materials. The graft materials are destroyed inwardly rather to be remodeled with mature bone.

사진부도 ①

Fig. 1. Photomicrographs of 2 weeks after surgery

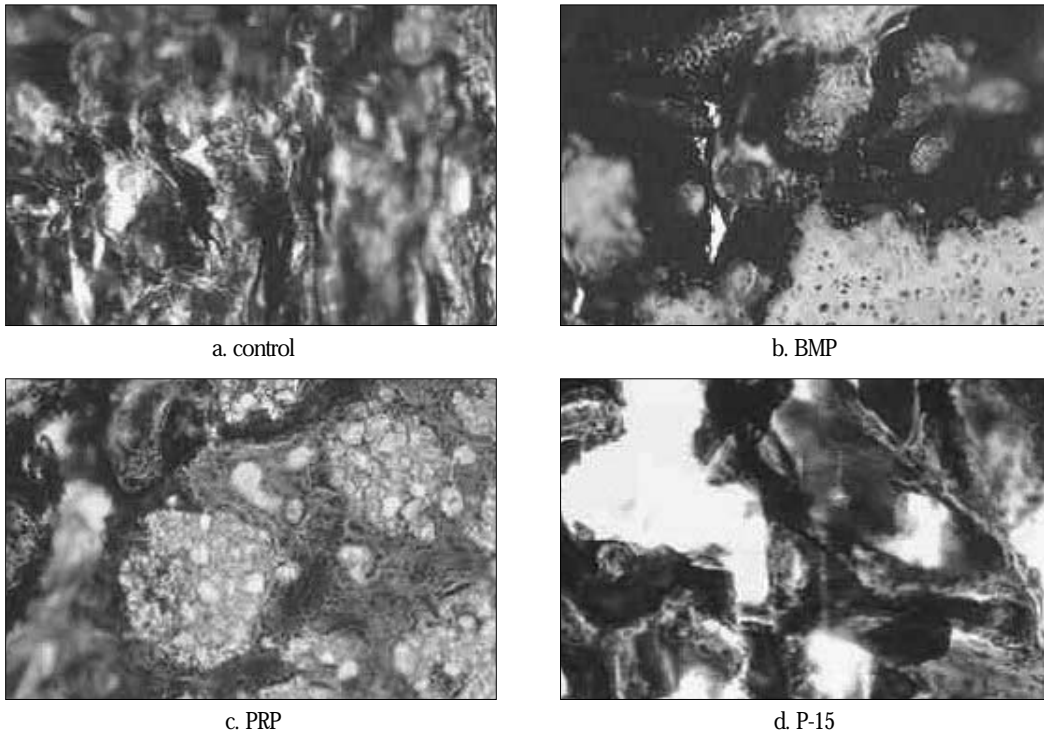
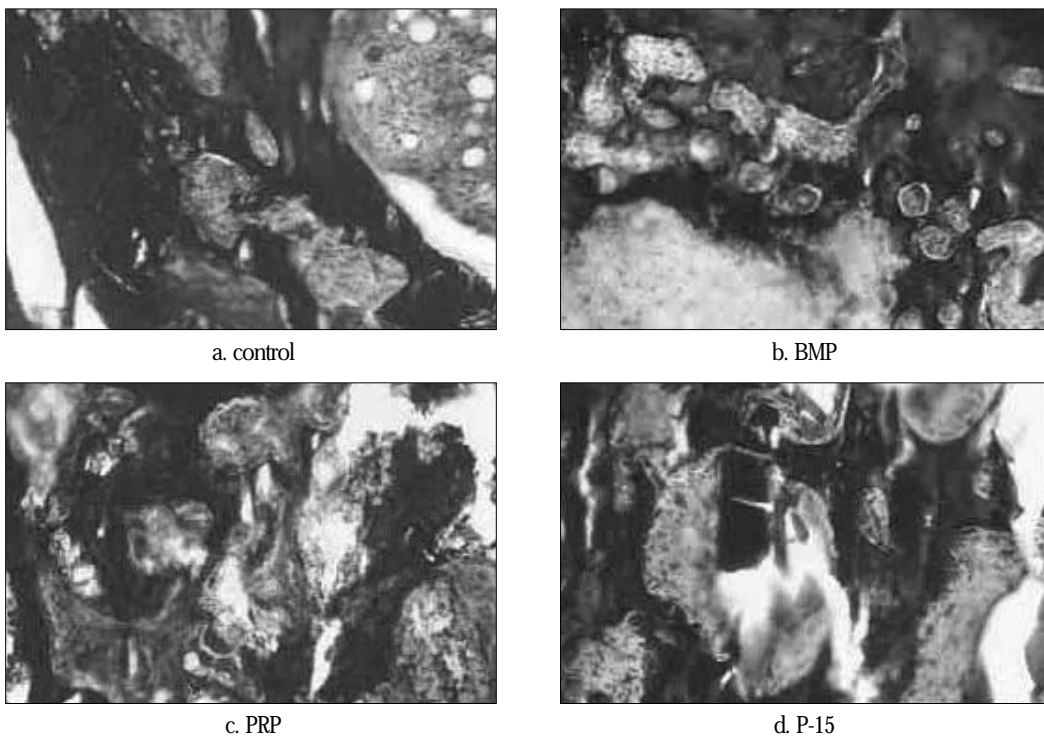
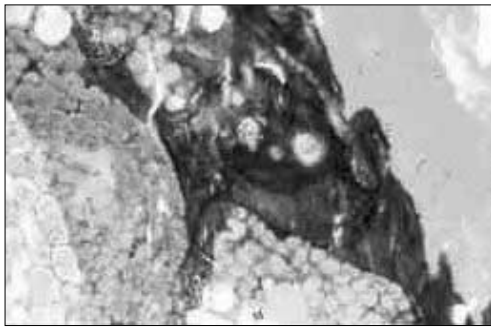


Fig. 2. Photomicrographs of 4 weeks after surgery

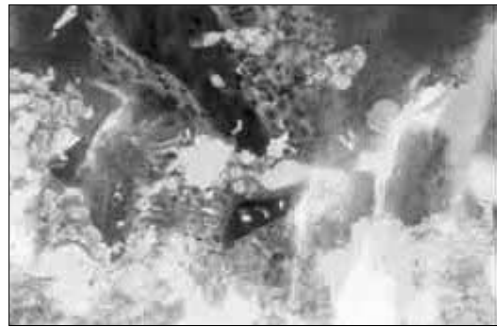


사진부도 ②

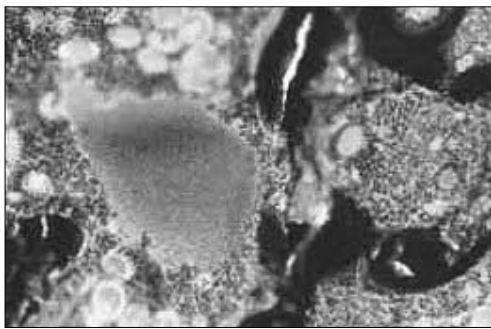
Fig. 3. Photomicrographs of 8 weeks after surgery



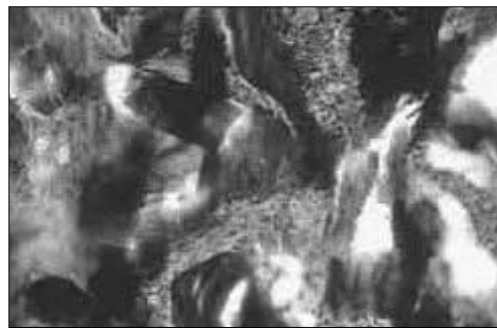
a. control



b. BMP



c. PRP



d. P-15