

백서 두개골 실험적 결손부에서 Para-Dioxanone 차단막의 골조직 재생 효과

권석훈¹ · 석헌주¹ · 김종관¹ · 정한성² · 문익상¹

¹연세대학교 치과대학 치주과학교실, 치주조직재생연구소

²연세대학교 치과대학 구강생물학교실

I. 서론

치주치료의 목적은 치주질환의 진행을 억제시키는 것뿐만 아니라, 질환으로 이미 파괴된 치주조직을 재생시키는데 있다¹⁾. 치주조직재생은 치주질환에 의해 상실된 부위에 신부착과 신생골, 신생백악질과 새로운 치주인대섬유가 형성된 치유형태를 말한다. 파괴된 치주조직의 재생을 위해서 골 이식술과 조직유도재생술(GTR)이 많이 행해지고 있다.

골 이식술은 동물실험과 임상실험에서 좋은 결과를 나타내고 있는데 Schallhorn등^{2,3)}은 이식재의 조건으로 생물학적 적합성, 예측성, 임상적 실행 가능성, 최소한의 수술 위험성 및 휴유증을 내세웠다. 골 이식재의 종류로는 자가골 이식, 동종골 이식, 이종골 이식, 골 대체물과 합성골 이식으로 나눌 수 있다. 이 중에서 가장 우수한 결과를 보이는 자가골 이식의 경우 수년간 치조골 결손부위에 사용했을 때 임상적으로 성공적인 결과를 나타내었으나 부가적인 수술 부위의 필요, 골유착 유발 및 치근 흡수의 가능성, 큰 결손부의 경우 충분한 양을 얻을 수 없다는 제한점이 있다.

조직유도재생술에 대해서 1976년 Melcher⁴⁾는 치주수술 후 치근면에 형성되는 부착양식이 처음 치근

면으로 이주하는 세포의 종류(상피세포, 결합조직 유래의 세포, 치주인대 유래의 세포, 골세포)에 의해 결정된다는 것을 시사했고 치주조직의 재생과 신부착은 건강한 치주인대로부터 분화된 미분화 간엽세포에 의한다는 개념을 발표했다^{5, 6, 7, 8, 9)}. 이 개념에 의거하여 여러 가지 종류의 차단막이 사용되어졌는데 이러한 차단막은 치은상피의 치근단 방향으로의 이주에 대한 방어벽 역할을 하면서 선택적 세포들만 치근면에 모일 수 있도록 함으로써 이전의 전통적인 치주 치료의 많은 한계를 극복할 수 있는 가능성을 제시해 주었다. 이 술식의 성공에는 환자의 전신 건강 상태, 구강 위생 상태, 흡연, 골 결손부의 형태, 차단막의 종류, 판막의 위치, 치은퇴축, 술자의 숙련도 등이 영향을 미친다.

Nyman등(1980)⁹⁾은 선택적인 세포증식이라는 개념을 차단막을 통하여 동물실험에 처음으로 적용하였는데 이들은 원숭이의 치주조직 결손부에 치주인대세포가 선택적으로 증식할 수 있도록 Millipore® filter를 처음으로 사용하여 신부착을 확인하고 신생백악질이 형성할 수 있다는 것을 조직학적으로 증명하였다. Gottlow등(1986)⁶⁾은 teflon 비흡수성 차단막을 사용한 실험을 통해 선택적인 세포증식에 의한 신부착 유도 과정을 조직유도재생이라고 정의하였

교신 저자: 문익상, 서울특별시 강남구 도곡동 146-92 연세대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호: 135-270

다. 이 후 보다 발전된 형태의 차단막인 ePTFE 비흡수성 차단막이 개발 됨으로써 조직유도재생술은 치주조직 재생을 위한 대표적인 술식으로 인정받게 되었다^{10, 11, 12, 13, 14}.

골유도재생술(GBR)은 조직유도재생술의 원리를 응용한 것인데 차단막으로 골 결손부를 피복하고 주위의 골표면에 밀착시켜서 골 결손부를 골 이외에서 유래되는 세포와 격리시키는 것이다. 그러면 골면과 막 사이에 골을 재생하기 위한 공간이 확보되어 골 재생이 촉진된다^{15, 16, 17}. 조직유도재생술이 자연치의 치주조직(치근 백악질, 치주인대, 치조골)을 재생시키는데 목적이 있다면 골유도재생술은 골조직이라는 단일 조직을 재생시키는데 이용된다.

Dahlin등(1989)¹⁷은 도끼를 이용하여 나사선을 부분 노출시킨 매식체에 ePTFE 차단막을 이용해서 실험을 하였는데 막을 사용한 부위에서는 노출된 모든 매식체 표면이 신생골로 덮였으나 막을 사용하지 않고 관막을 덮은 부위에서는 경미한 골재생이 진행되고 대부분 결합조직으로 채워져 있는 것을 보고하였다. Lazzara(1989), Becker(1990), Nyman(1990) 등^{18, 19, 20}은 신선 발치와에 매식체를 매식하고 혈병 형성이나 골생성을 위한 공간을 확보하기 위해 매식체 위를 ePTFE 차단막으로 덮은 결과 매식체 주위에 신생골이 형성되는 것을 관찰 하였다. Buser등(1993)²¹은 국소적인 치조제 증대에 대한 공간을 확보하기 위해 차단막을 자가골 이식편과 지지용 스크류와 병용하는 방법에 대해 소개했다. 이와같이 차단막을 사용한 골유도재생술은 매식체주위의 골열개, 천공부의 골재생을 비롯해 국소적인 치조제 증대술, 발치후 즉시 매식 임플란트용으로 널리 이용되고 있다.

조직유도재생술과 골유도재생술에 널리 이용된 ePTFE 차단막은 생체 적합성은 우수하나 비흡수성이기 때문에 2차 수술을 통해 제거해야만 하는 불편함과 이로 인해 신생조직이 재형성되는 과정이 방해되는 문제점이 야기되고 있다²². 이러한 문제점을 해결하기 위하여 생분해성 차단막의 개발에 대한 연구가 오래 전부터 진행되어져 왔다. Caffesse등(1997)²³은 조직유도재생술시에 흡수성막과 비흡수성막을

임상적으로 비교했으며 Acquirre등(1999)¹⁰은 흡수성 차단막을 이용하여 골내 결손부의 재생을 보고 하였다.

현재까지 시도되었거나 사용되고 있는 생분해성 차단막의 재료로는 I형 collagen이 있는데 이는 치주인대조직에 대한 화학주성과 지혈 작용이 있으며, 초기 혈관과 조직이 안으로 자라올 수 있도록 섬유성 지지대의 역할을 한다. 그러나 이 재료는 사용되어진 collagen의 유형에 따라 다양한 면역반응이 일어나며, 치주조직의 재생에 필요한 시간보다 빠른 속도로 흡수되는 단점이 있어서 치주조직 재생에 긍정적인 결과를 보이는 경우에도 그 효과는 그다지 크지 않았다. 이에 비하여 glycolide와 lactide로 이루어진 copolymer인 생분해성 차단막이 동물 및 인체 실험에서 치유과정 중 해로운 작용이 없을 뿐만 아니라 치주조직의 재생능력에 있어서도 ePTFE 막과 유사한 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다^{24, 25, 26, 27, 28, 29}. 새로이 개발되어진 Para-Dioxanone membrane은 지금까지 전반적으로 사용되던 차단막들이 식물 구조였던 것에 비하여 부직포의 구조를 가지고 있다. 이러한 생분해성 부직포는 제조원가와 생산량에 있어서 기존의 식물 구조보다 이점이 있어서 생체 적합성 및 골조직 재생 유도 능력이 뛰어난 경우 기존의 재료를 대체할 수 있는 효과를 가져올 수 있다.

이에 저자는 외과적으로 형성된 백서 두개골 실험적 결손부에서 Para-dioxanone 차단막을 이용하여 골조직 재생 유도 능력을 조직학적, 조직 계측학적으로 관찰 평가하여 다소의 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다^{30, 31, 32, 33, 34}.

II. 연구재료 및 방법

가. 연구 재료

1. 실험 동물

본 연구에서는 체중 300-400g의 웅성 백서(Sprague Dawley rat) 54 마리의 두개골을 사용 하였다. 실험동물은 연세대학교 의과대학 임상의학연구소에 의한 관리지침을 따랐다.

2. 실험재료

실험 재료로는 Biomes[®]차단막(Samyang Co., Seoul, Korea)과 새롭게 제조된 Para-dioxanone 차단막 (Metabiomed Co., Chong-ju, Korea)을 사용하였다. 그 제조방법은 다음과 같다(Figure 1).

〈PDO부직포 제조 과정〉

Electrospun web

지름이 10mm인 유리관을 완전 건조시킨 후 성형하여 첨단 지름이 0.5mm되도록 만든 다음 PDO chip을 유리관에 넣어 150℃까지 가열한다. 이때 질소를 이용하여 관내의 수분을 제거시킨다. 고분자가 용융되었을 때 약간의 질소 압력을 가하고 tip부극에 (+)극을 걸어주고 부직포가 집적될 회전 원형드럼에 (-)극을 걸어 두 극 사이에 전기장이 형성되게 한다. 이때 첨단과 드럼롤러 사이의 거리는 20~40mm가 되게 하며, 원형드럼의 속도는 21.4%로 고정시킨다.

150℃에서 10분간 가열한 다음 온도를 180℃로 올리고 전극에 8kV의 전압을 걸어주어 electro-spinning을 실시한다. 이후 원형드럼을 200회전시켜 두께가 1.8mm인 부직포를 제조하였다.

나. 연구 방법

1. 실험군 설정

두개골 결손부에 아무 것도 처리하지 않은 군을 대조군으로 하고 결손부에 Para-dioxanone 차단막을

사용한 군을 실험군으로 설정하였다. 추가적으로 Para-dioxanone 군과 비교하기 위해서 흡수성 차단막인 Biomes[®]군을 설정하였다. 각 군은 수술 후 4주, 8주, 12주의 치유기간을 두고 희생시켜 관찰하였는데, 각 주별로 6마리씩 배정하여 총 54마리를 사용하였다.

2. 골 결손부 형성 및 외과적 처치

각군의 백서에 50mg/ml의 염산 케타민(Ketalar, Yuhan Co., Seoul, Korea)을 근육주사(70mg/kg)하여 마취하였다. 두부를 제모후 povidone iodine으로 소독한 후 고정하였다. 수술 부위를 소량의 2% lidocaine(1:100,000 epi, Yuhan Co., Seoul Korea)으로 침윤 마취한 후 전두골 전방부에서 후두골 후방부까지 정중부를 따라 두피를 절개하여 두개골의 상면을 노출시켰다. 8mm 지름의 trephine bur를 이용하여 경뇌막(dura mater)에 손상을 주지 않도록 하면서 지름 8mm의 원형 결손부를 형성하였다. 아무것도 이식하지 않은 군을 대조군으로 하고, Biomes[®]로 덮은 군을 추가로 설정하였다. Para-dioxanone 차단막으로 결손부를 덮은 군을 실험군으로 설정하였다. 그후 두피를 덮어 4/0 Ethilon[®](Ethicon, Edinburgh, Scotland, UK)으로 봉합하였다. 1주일 후 발사하였고 실험 후 4주, 8주, 12주에 각 군 당 6마리씩 실험 동물을 희생시키고 두개골을 절제하였다.

3. 조직학적 관찰

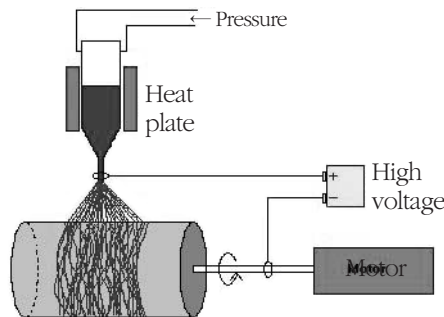


Figure 1. The Schematic diagrams of Electro-spun nonwoven process

절제해낸 조직을 10% 포르말린에 고정하고 5% nitric acid에 넣어 탈회시킨 후 파라핀 포매하였다. 이 블럭을 3 μ m 두께로 결손부의 중앙부에서 관찰면으로 절단하여 이를 Hematoxylin-Eosin(H-E) 염색법으로 염색하고, 광학현미경하에서 20배, 100배, 400배로 관찰하였다.

4. 조직 계측학적 관찰

20배 배율로 확대된 조직 표본 상을 컴퓨터 모니터 상에 재현하고 Image-Pro Plus[®]를(Media Cybernetics, Silver Spring, M.D.,USA) 이용하여 두개골 결손부의 흡수되지 않고 남은 차단막의 면적과 신생골 면적(mm)을 계측하였다. 이 값을 각 주별로 평균하여 각 군내 및 군간을 비교하였다.

5. 통계학적 분석

조직학적 계측결과를 ANOVA를 이용하여 비교하였다.

III. 결과

가. 조직학적 관찰

1. 대조군

1) 4주 소견

연조직 치유와 신생골 형성이 진행되고 있고 결손 부위는 얇고 성긴 섬유성 결합조직에 의해 채워져 있었다. 신생골은 주로 결손부 변연에 국한되어 소량 형성 되었으며 주위로 조골세포와 염증세포가 관찰되었다.

2) 8주 소견

4주와 비교해서 결합조직이 더 균일한 밀도를 보이고 혈관이 더 많이 증식된것으로 관찰 되었다. 4주에 비하여 신생골 생성량은 더 증가된 양상을 보였고 결손부의 대부분은 성긴 결합조직으로 채워져 있었다. 결손부 신생골은 신생골 말단부에 비해 더 균일하고 성숙해지는 소견을 관찰할 수 있었다. 변연의 신생골 말단에는 골성조직(osteoid)이 관찰되고

그 전방으로 조골세포가 배열되어 있었고 염증 세포도 관찰되었다.

3) 12주 소견

더욱 정돈되고 균일한 섬유성 결합조직에 의해 신생골이 둘러싸여 있었고 신생골은 성숙된 양상을 보이고 있었다. 신생골 말단에 골성조직은 관찰되지 않았다. 결손부의 중앙부 역시 성긴 결합조직에 의해 채워져 있었다.

2. Biomesch[®]군

1) 4주 소견

연조직 치유와 신생골 형성이 진행되고 있고 결손 부위는 얇고 성긴 섬유성 결합조직에 의해 채워져 있었다. 차단막이 형태를 관찰할 수 있을 정도로 거의 흡수되지 않았고 주위로 염증세포도 관찰되었다.

2) 8주 소견

4주와 비교해서 결합조직이 더 균일한 밀도를 보이고 혈관이 더 많이 증식된것으로 관찰되었다. 신생골 형성이 상당히 증가 되었으며 차단막의 흡수가 4주에 비해 진행된 것을 알수 있었다. 결손부의 대부분은 성긴 결합조직으로 채워져 있었고 염증세포도 관찰되었다.

3) 12주 소견

신생골 형성은 계속 진행되었으며 생성된 골도 성숙되어 기존골과 혼화되는 양상을 보였다. 차단막도 형태를 알아볼 수 없을 정도로 대부분이 흡수되었다.

3. 실험군

1) 4주 소견

차단막이 거의 흡수되지 않고 남아 있으며 오히려 부풀어 있는 특징적 양상을 보이고 있었다. 주위로 얇은 섬유성 결합조직에 의해 채워져 있었으며 염증 세포가 차단막 주위로 관찰 되었다. 소량의 신생골이 형성된 것을 관찰할 수 있었다.

2) 8주 소견

Table 1. Histomorphometric analysis of new bone formation(area) (mean±standard deviation; n=6, mm)

	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Control	0,001±0,001	0,021±0,020	0,163±0,067*
Biomesh®	0,006±0,005+	0,133±0,073+	0,500±0,197**
Para-dioxanone	0,002±0,003	0,118±0,070+	0,487±0,214**

*:Statistical significant difference compared to 8 weeks group(P<0,05)

+:Statistical significant difference compared to control group(P<0,05)

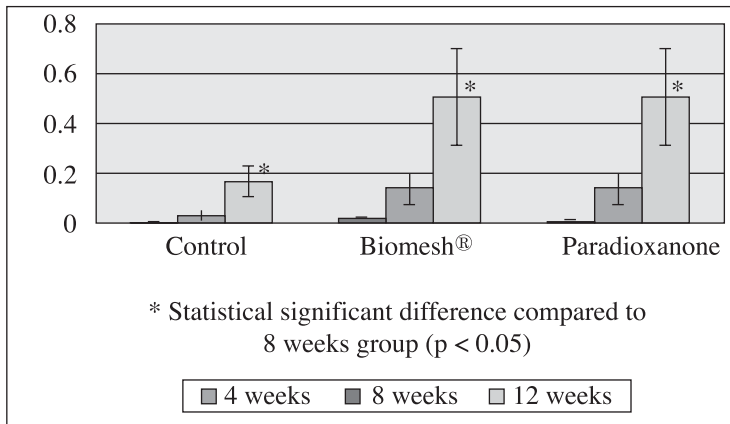


Figure 2. Histomorphometric analysis of new bone formation(area) within the group

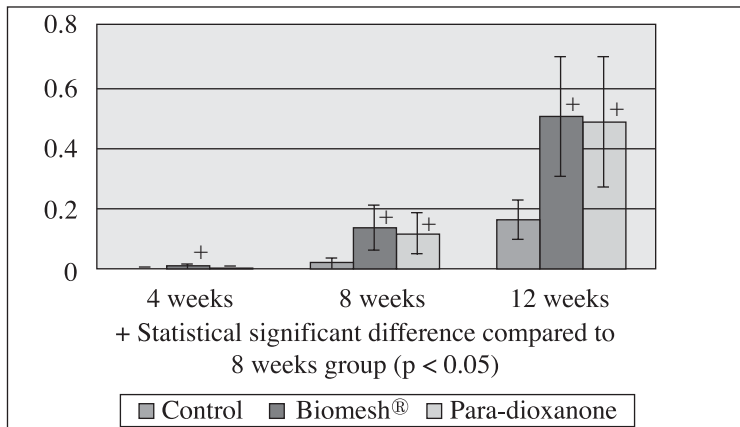


Figure 3. Histomorphometric analysis of new bone formation(area) between the groups

4주에 비해 상당량의 차단막이 흡수되어 형태를 알아볼 수 없었고 일부 섬처럼 남은 차단막을 관찰할 수 있었다. 신생골도 기존골 변연에서 많이 형성되었으나 흡수되지 않고 남은 차단막을 중심으로 많

은 염증세포가 관찰되었다.

3) 12주 소견

차단막은 거의 흡수되어 일부에서만 소량의 잔사를 관찰할 수 있었고 8주에 비해 염증세포도 감소된

상태였으나 여전히 관찰되었다. 신생골이 성숙되어 주변골과 혼화되는 양상을 보였다.

0.001, 0.006 ± 0.005 , 0.002 ± 0.003 8주에 0.021 ± 0.020 , 0.133 ± 0.073 , 0.118 ± 0.070 12주에 0.163 ± 0.067 , 0.500 ± 0.197 , 0.487 ± 0.214 로 나타났다 (Table 1, Figure 2, 3).

나. 조직 계측학적 관찰

1. 두개골 결손부 내 신생골 면적(mm²)

두개골 결손부 내 신생골 면적은 대조군, Biomes[®]군, Para-dioxanone군에서 각각 4주에 $0.001 \pm$

2. 두개골 결손부내 차단막의 흡수정도(mm²)

두개골 결손부내 차단막의 흡수정도를 계측하였다. 흡수되지 않고 남아있는 차단막의 면적은

Table 2. Histomorphometric analysis of remaining membrane(area) (mean±standard deviation; n=6, mm²)

	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Biomes [®]	$1,143 \pm 0,499^+$	$0,666 \pm 0,140$	$0,365 \pm 0,110$
Para-dioxanone	$2,599 \pm 1,012^{**}$	$0,314 \pm 0,131$	$0,076 \pm 0,050$

*:Statistical significant difference compared to 8weeks group(P<0.05)

+Statistical significant difference compared to Biomes[®] group(P<0.05)

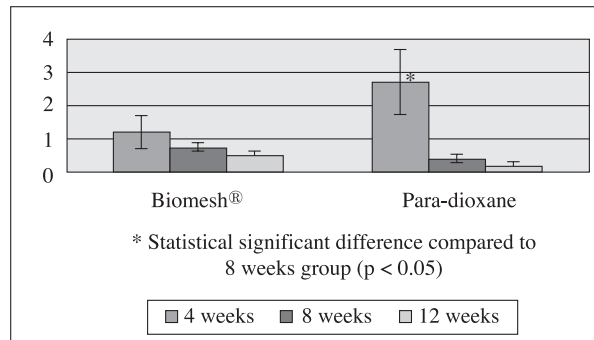


Figure 4. Histomorphometric analysis of remaining membrane(area) within the group

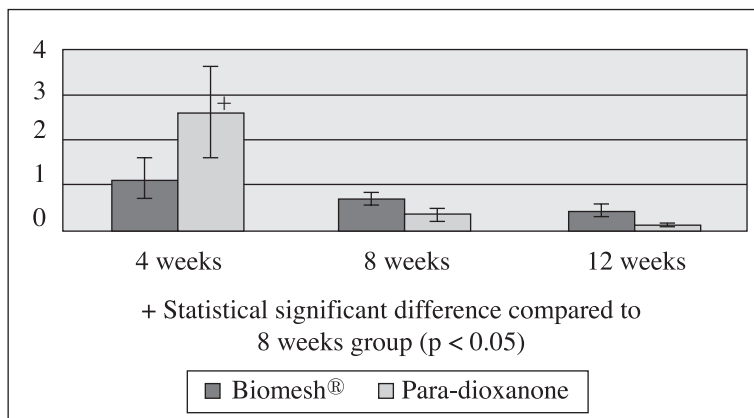


Figure 5. Histomorphometric analysis of remaining membrane(area) between the groups

Biomesh[®], Para-dioxanone군에서 4주에 1.143 ± 0.499 , 2.599 ± 1.012 8주에 0.666 ± 0.140 , 0.314 ± 0.131 12주에 0.365 ± 0.110 , 0.076 ± 0.050 로 나타났다(Table 2, Figure 4, 5).

IV. 총괄 및 고찰

본 연구에서는 외과적으로 형성된 백서 두개골 실험적 결손부에서 Para-dioxanone 차단막을 이용한 골조직 재생 유도 능력을 조직학적, 조직 계층학적으로 평가하였다. 이와 비교하기 위해 두개골 결손부에 아무것도 처치하지 않은 군을 대조군으로 하였고 추가적으로 Biomesh[®]를 처리한군을 설정하여 실험군과 비교하였다.

치주조직 재생을 위해 사용되는 조직유도재생술을 위해서 초기에는 주로 비흡수성 차단막이 사용되어왔다. 그러나 이러한 비흡수성 차단막은 보통 수술후 4-6주후 제거해야 하는데 이로 인하여 여러 가지 문제점이 야기되고 있다. 막제거 시 미성숙한 신생조직이 막을 향하여 증식 부착되어 신생조직이 치유되는 과정에서 기계적인 손상을 가해질 수 있으며 2차 수술후 신생조직을 판막으로 완전히 피복할 수 없다면 재생조직이 감소할 수도 있다^{35, 36}.

이러한 이유 때문에 생체내 흡수성막이 계속해서 개발되고있는데 흡수성막은 2차수술이 필요없으므로 이러한 문제들이 해결되고, 환자와 술자의 부담을 경감시키는데도 유리하다. Cortellini 등(1996)³⁷은 흡수성 막(Resolut; W.L.GORE)과 비흡수성 e-PTFE막의 임상적 결과를 비교하고, 부착획득 양에는 큰 차이가 없었다고 보고하였고, Becker 등(1996)³⁸도 흡수성 막(Resolut; W.L.GORE)을 사용해 1년 후 부착상태를 관찰했는데 바람직한 결과를 얻었다고 하였다.

그러나 임상에서 흡수성막을 사용했을 경우 최대 결점은 막이 구강내 노출 되었을 경우 흡수성이기 때문에 막을 제거할 수 없고 막을 통해 세균이 막 아래의 재생조직을 감염시키는 것을 방지 할 수 없다는 것이다. 이러한 이유로 Becker 등(1996)³⁸은 초기 폐쇄가 곤란한 증례에는 비흡수성 막을 사용해야 한

다고 하였고 흡수성 막을 사용할 경우에는 환자의 치태조절능력이나 흡연 습관등 치유에 관여하는 사항 등에 대해 비흡수성 막을 사용했을 때보다 엄격하게 관리해야 한다고 하였다.

또한 흡수성막은 2차수술을 통한 제거가 아니라 생체내에서 흡수되는 것이므로 막이 흡수되는 시기가 문제가 된다. 흡수가 너무 빨리 일어나는 경우에 재생된 조직이 미성숙 되고 골재생량 및 부착획득이 감소가 되는 문제점이 있고 흡수가 너무 늦게 일어나면 치유기간이 길어지고 화농형성등의 합병증을 유발할 수 있다⁵.

새로이 개발되어진 Para-dioxanone membrane은 Glycolide 와 lactide로 이루어진 copolymer인 생분해성 차단막으로서 동물 및 인체 실험에서 치유과정 중 해로운 작용이 없을 뿐만 아니라 치주조직의 재생능력에 있어서도 ePTFE 막과 유사한 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다.

Para-dioxanone membrane의 골재생 유도 능력을 평가하기 위해 백서 두개골 결손부 실험 모델을 선택하였다^{31, 39, 40, 41}. 백서의 두개골에서의 임계 크기 결손에 대한 연구는 Freeman과 Turnbull 등⁴²에 의해 처음 시도되었으며 그 크기는 8mm이다.

8mm 직경의 결손부를 형성하기 위해 8mm 직경의 trephine bur를 이용하였다. 두개골 결손부 골재생에 있어서 경뇌막의 역할이 중요하므로, 결손부 형성시 손상 시키지 않도록 주의하여야 한다.

연구의 분석 방법으로 조직학적 소견 관찰과 조직 계층학적 비교를 시행하였다.

조직학적 소견에서 시간이 경과할수록 세균 모두 신생골형성이 증가하고 있었으며 결합조직이 치밀해지는 소견을 보였다. Biomesh[®]와 Para-dioxanone 군에서는 시간이 경과 할수록 차단막이 흡수되는 소견을 보였으며 차단막 주위로 염증소견이 관찰 되기도 하였으나 12주 소견에서는 어느정도 감소된 소견을 보였다. 특징적으로 Para-dioxanone 차단막은 초기에 부피가 상당히 부풀려 있는 소견을 보였으나 8주소견에서는 급속히 흡수가 진행되었으며 12주에서는 거의 형태를 알 수 없을 정도로 흡수되었다. 초기에 급격한 팽창은 아마도 Para-dioxanone mem-

brane이 기존의 차단막 구조와 다른 부직포 구조이기 때문에 생기는 것으로 추정된다. 이와 달리 Biomesh®는 초기의 팽창 없이 형태를 유지 하면서 일정한 속도로 흡수되는 소견을 보였다.

조직 계측학적 비교에서는 신생골의 면적과 흡수 되지 않고 남은 잔존 차단막의 면적을 측정 하였다. 계측은 slide를 digital camera로 촬영하여 image를 computer에 저장후 Image Pro Plus® program을 이용하여 tracing후 면적을 측정하였다. 조직표본은 결손부 관상면 중앙부를 선택 하였다. 조직 계측학적 소견에서 Biomesh®는 4주, 8주, 12주 모두에서 대조군에 비해 통계적으로 유의성 있는 신생골 형성이 계측 되었으며 Para-dioxanone 에서는 4주에는 신생골 형성이 대조군과 유의차가 없었으나 8주, 12주에서는 통계적으로 유의차가 있었다. Biomesh®와 Para-dioxanone 간에는 유의차 있는 결과가 나타나 지 않았다.

각군 내에서 신생골 형성 면적을 비교한 것을 보면 대조군, Biomesh®군, Para-dioxanone군 모두 4주와 8주간에는 통계적 유의차가 없었으나 4주와 12주, 8주와 12주간에는 통계적 유의차가 나타났다. 이는 세군 모두에서 초기(4주에서 8주)에는 서서히 신생골이 형성 되다가 8주가 지나면서 신생골 형성 속도가 급격히 빨라 지는 것을 의미한다.

이상의 실험 결과에서 Para-dioxanone 차단막의 골조직 재생 유도능력이 입증 되었으며 생체에서 일어나는 염증과 관련된 생체친화성 문제와 초기에 부피가 팽창하는 문제를 보완한다면 치주영역에서 골재생을 위한 조직유도재생술에서 기존의 차단막을 대체할 수 있는 가능성을 보여주었다.

V. 결론

본 연구는 백서 두개골 결손부에서 Para-dioxanone 차단막을 처치 했을 때 결손부의 재생과 치유에 미치는 영향을 평가하기 위하여 시행하였다. 300-400g의 Sprague-Dawley rat의 두개골에서 임계 크기 결손부인 직경 8mm를 실험적으로 형성한 후 아무것도 처리하지 않은 군을 대조군으로 설정하였고 추가

적으로 Para-dioxanone 군과 비교하기 위해서 흡수성 차단막인 Biomesh® 군을 설정하였다. 술 후 4주, 8주, 12주에 치유 결과를 조직학적, 조직 계측학적으로 비교 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 두차단막 모두 흡수되고 있는 차단막주위로 염증세포가 관찰되었다. 염증세포는 시간이 경과할수록 감소 되었으나 12주 소견에서도 여전히 염증세포를 관찰 할 수 있었다. Biomesh®보다는 Para-dioxanone 차단막에서 더 많은수의 염증세포가 관찰되었다.
2. 신생골 면적은 대조군, Biomesh®군, 실험군에서 각각 술후 4주에 0.001 ± 0.001 , 0.006 ± 0.005 , 0.002 ± 0.003 8주에 0.021 ± 0.020 , 0.133 ± 0.073 , 0.118 ± 0.070 12주에 0.163 ± 0.067 , 0.500 ± 0.197 , 0.487 ± 0.214 로 나타났다.(단위 mm²) 대조군과 비교해서 Biomesh®군은 4주, 8주, 12주에서 유의성 있는 차이를 보였으며 Para-dioxanone 군은 8주, 12주에서 유의성 있는 차이를 보였다.(P<0.05)
3. 흡수되지않은 차단막의 면적은 Biomesh®군, 실험군에서 4주에 1.143 ± 0.499 , 2.599 ± 1.012 8주에 0.666 ± 0.140 , 0.314 ± 0.131 12주에 0.365 ± 0.110 , 0.076 ± 0.050 로 나타났다.(단위 mm²) 두군 간에 술후 4주에서 유의성 있는 차이가 나타났다(P<0.05)

이상의 결과에서 볼 때 백서 두개골 결손부에 Para-dioxanone 차단막을 사용한 경우 초기에는 차단막의 부피가 팽창되어서 신생골 재생량이 적으나 8주 이후에는 정상적으로 흡수가 일어나고 이에 따라 신생골 재생도 일어나는 것을 알 수 있었다. 더욱 심도 깊은 연구가 진행되어 몇가지 문제점을 보완한다면 치주영역의 조직유도재생술에서 기존의 차단막을 대체할 수 있으리라 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Stahl SS. Repair potential of the soft tissue-root surface. J periodontol 48; 545-552,1977

2. Schallhorn RG, Long term evaluation of osseous grafts in periodontal therapy. *Int Dent J.* 1980 Jun;30(2):101-16.
3. Schallhorn RG, Hiatt WH, Boyce W: Iliac transplants in periodontal therapy, *J. Periodontol.*, 41: 566, 1970.
4. Melcher AH : Onthe repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol*, 47; 256-260, 1976.
5. Caton J, Wagener C, Polson A, Nyman S, Frantz B, Bouwsma O, Blieden T: Guided tissue regeneration interproximal defects in the monkey. *Int J Periodont Rest Dent* 12(4): 267-277, 1992.
6. Gottlow J Nyman S, Lindhe J, Karring T. New attachment formation as a result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 11; 494-503, 1984.
7. Gottlow J Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennstrom J New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case report. *J Clin Periodontol.* 13; 604-616, 1986.
8. Isidor F, Karring T, Nyman S, Lindhe J. The significance of coronal growth of periodontal ligament tissue for new attachment formation. *J Clin Periodontol.* 13; 145-150,1986.
9. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 9; 290-296, 1982.
10. Aquirre-Zorzano LA, Estefania-Cundin E Gil-Lozano J. Martinez-Conde R, Periodontal regeneration of infrabony defects using resorbable membrane: determinants of the healing response. An observational clinical study. *Int. J. periodontics & Restorative Dentistry.* 19(4): 363-71, 1999.
11. Becker W Becker E Berg L Prichard J Caffesse R Rosenberg E. New attachment after treatment with root isolation procedure : Report for treated classIII and classII furcation and vertical osseous defects. *Int J periodontics Restorative Dent.* 8(3); 9-23, 1988.
12. Caffesse RG, Smith BA Duff B Morrison EC Merrill D, Becker W class II furcation treated by guided tissue regeneration in humans : case report. *J periodontol.* 61; 510-514, 1990.
13. Macheti EE, Dunford RG Norderyed OM Zambon JJ, Genco RJ. Guided tissue regeneration and anti-infective therapy in the treatment of Class II furcation defects. *J periodontol.* 64; 968-973, 1993.
14. Pontoriero R, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rosenberg E, Sanavi F. Guided tissue regeneration in the degree II furcation-involved mandibular molars. *J Clin Periodontol.* 15; 247-254, 1988.
15. Becker W, Becker BE, Handelsman M, Celletti R, Ochsenbein C, Hardwick R, Langer B: Bone formation at dehiscenced dental implant sites treated with implant augmentation material: A pilot study in dogs. *Int J Periodont Rest Dent* 10(2): 93-102, 1990.
16. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S: Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 81(5): 672-676, 1988.
17. Dahlin C, Sennerby L, Lekholm U, Linde A, Nyman S: Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: An experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 4(1): 19-25, 1989.
18. Becker W, Becker BE: Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets and for implant dehiscences: Surgical technique and case reports. *Int J Periodont Rest Dent* 10(5): 377-391, 1990.
19. Lazzara R: Immediate implant placement into extraction sites: Surgical and restorative advantages. *Int J Periodont Rest Dent* 9(5): 333-344,

- 1989.
20. Nyman S, Lang NP, Buser D, Bragger U: Bone regeneration adjacent to titanium dental implants using guided tissue regeneration: A report of two cases. *Int J Oral Maxillofac Implants* 5(1): 9-14, 1990.
 21. Buser D, Dula K, Belser UC, Hirt H-P, Berthold H: Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. I. Surgical procedure in the maxilla. *Int J Periodont Rest Dent* 13(1): 29-45, 1993.
 22. Polson AM, Garret S, Stoller NH, Greenstein G, Polson AP, Harrold CQ, Laster L. Guided tissue regeneration in the human furcation defects after using a biodegradable barrier : a multi - center feasibility study. *J periodontol.* 66; 377-385, 1995.
 23. Caffesse RG, Mota LF, Quinones CR, Morrison EC. Clinical comparison of resorbable and non-resorbable barriers for guided periodontal tissue regeneration. *J. clin periodontol.* 24(10):747-52, 1997.
 24. Fleisher N, Waal HD, Bloom A. Regeneration of lost attachment apparatus in the dog using vicryl absorbable mesh (polyglactin 910). *Int J periodontics Restorative Dent.* 8(2); 45-54, 1995.
 25. Magnusson I, Batich C, Collins BR. New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membranes. Histologic and histometric study in dogs. *J periodontol.* 65; 583-591, 1994.
 26. 류인철, 구영, 정종평, 한수부, 최상묵: Poly (alpha-hydroxy acids)제제 생분해성 차단막의 치주조직 재생 유도 능력에 관한 조직학적 장기 관찰, *대한치주과학회지*, 27(3): 633-645, 1997.
 27. 서종진, 정예진, 최병갑, 최성호, 조규성: 골내 치주낭에 Biomesh® 차단막과 자가골이식의 치료 효과에 대한 연구, *대한치주과학회지*, 29: 539-552, 1999.
 28. 이학철, 한승민, 설양조, 이철우, 엄홍식, 장범석, 정종평, 한수부: 2급 치근분지부 병소에서의 생분해성 차폐막의 효과, *대한치주과학회지*, 29: 539-552, 1999.
 29. 허지선, 김현영, 김창성, 최성호, 조규성, 채중규, 김종관: Polylactic/polyglycolic copolymer 차단막의 이개부 병소의 치유효과, *대한치주과학회지*, 31(2): 345-356.
 30. Brunel G, Piantoni P, Elharar F, Benque E, Marin P, Zahedi S : Regeneration of rat calvarial defects using a bioabsorbable membrane technique: Influence of collagen cross-linking. *J Periodontol*, 67: 1342-1348, 1996.
 31. Schmitz JP, Hollinger JO: The critical size defect as an experimental model for cranio-mandibulofacial nonunions. *Clin Orthop* 205: 299-308, 1986.
 32. Schmitz JP, Schwartz Z, Hollinger JO, Boyan B.D.: Characterization of rat calvarial nonunion defects. *Acta Anat*, 138: 185-192, 1990.
 33. 김성태, 전길자, 임소형, 조규성, 김종관, 최성호: 백서 두개골 결손부에서 홍화씨 추출물의 골조직 재생 유도 효과, *대한치주과학회지*, 30(4): 835-850, 2000.
 34. 정의원, 서종진, 최성호, 조규성, 채중규, 김종관: 백서 두개골 결손부에서 키토산의 골조직 재생 유도 효과, *대한치주과학회지*, 30(4): 851-868, 2000.
 35. Cortellini P, Pini Prato G, Tonetti MS: Interproximal free gingival grafts after membrane removal in guided tissue regeneration treatment of infrabony defects. A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* 66(6): 488-493, 1995.
 36. Tonetti MS, Pini Prato G, Cortellini P: Periodontal regeneration of human infrabony defects. Determinants of healing response. *J Periodontol* 64(10): 934-940, 1993.
 37. Cortellini P, Pini Prato G, Tonetti MS:

- Periodontal regeneration of human intrabony defects with bioresorbable membranes. A controlled clinical trial. *J Periodontol* 67: 217-223, 1996.
38. Becker W, Becker BE, Mellonig J, Caffesse RG, Warrar K, Caton JG, Reid T: A prospective multi-center study evaluating periodontal regeneration for class II furcation invasions and intrabony defects after treatment with a bioabsorbable barrier membrane: 1-year results. *J Periodontol* 67: 641-649, 1996.
39. Caton J, Mota L, Gandini L, Laskaris B: Non-human primate models for testing the efficacy and safety of periodontal regeneration procedures. *J Periodontol* 65: 1143-1150, 1994.
40. Kleinschmidt JC, Hollinger JO: Animal models in Bone research. *Basic science of bone graft healing*, chapter 13: 133-146
41. Selvig KA: discussion: Animal models in reconstructive therapy. *J Periodontol*, 65: 1169-1172, 1994.
42. Freeman E, Turnbull RS : The role of osseous

coagulum as a graft material, J. Perio. Res., 8 : 229-235, 1973.

사진부도 설명

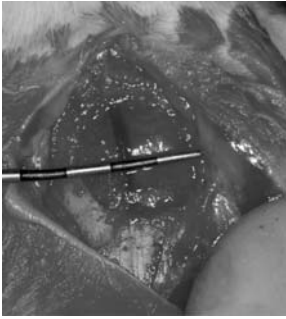


Figure 6. Defect preparation

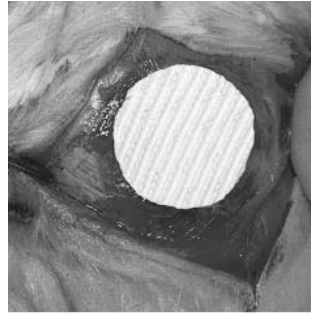


Figure 7. Membrane application

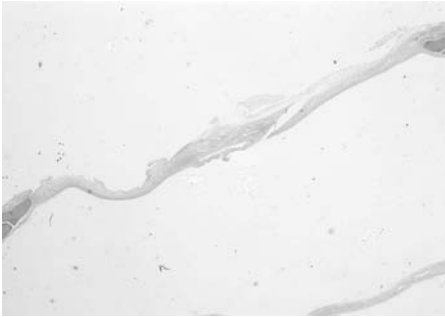


Figure 8. Control, 4 wks(HE×20)

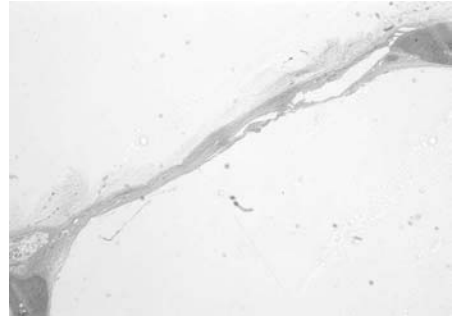


Figure 9. Control, 8 wks(HE×20)

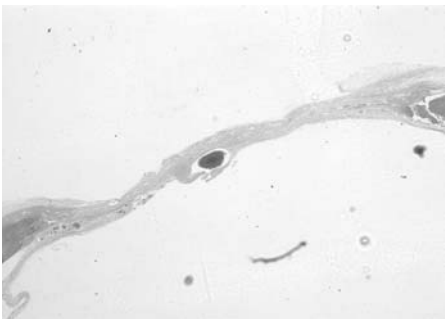


Figure 10. Control, 12 wks(HE×20)



Figure 11. Biomesh®, 4 wks(HE×20)

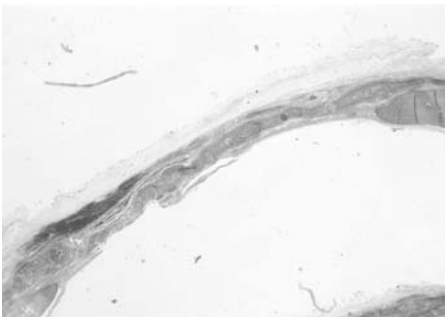


Figure 12. Biomesh®, 8 wks(HE×20)

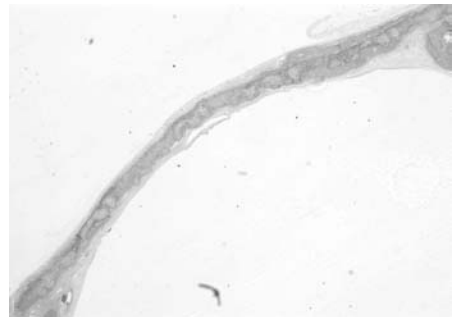


Figure 13. Biomesh®, 12 wks(HE×20)

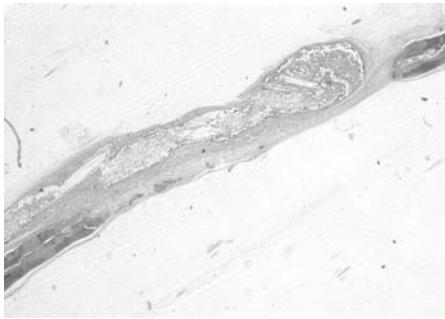


Figure 14. Exp., 4 wks(HE×20)

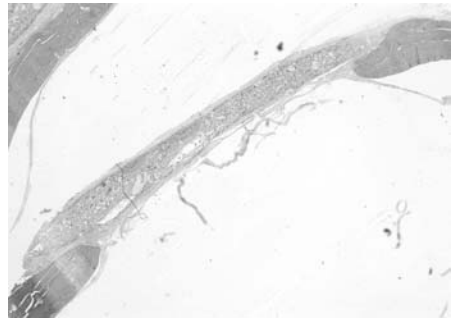


Figure 15. Exp., 8 wks(HE×20)

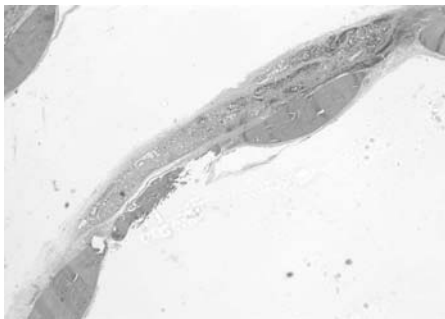


Figure 16. Exp., 12 wks(HE×20)

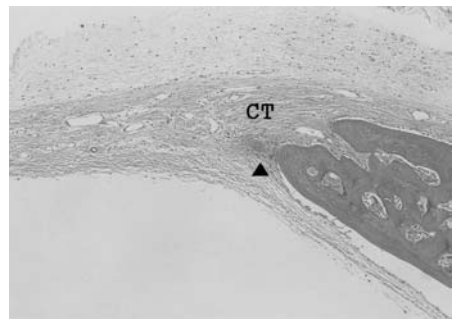


Figure 17. Control, 4 wks(HE×100)

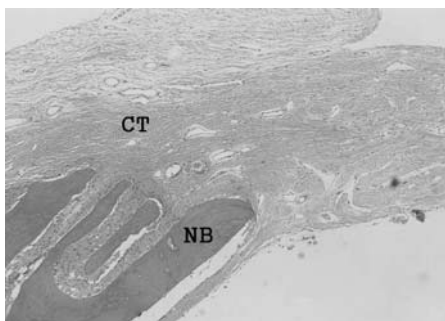


Figure 18. Control, 8 wks(HE×100)

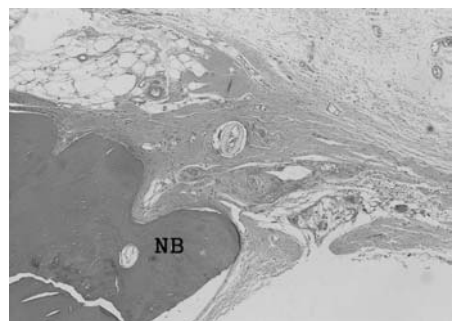


Figure 19. Control, 12 wks(HE×100)

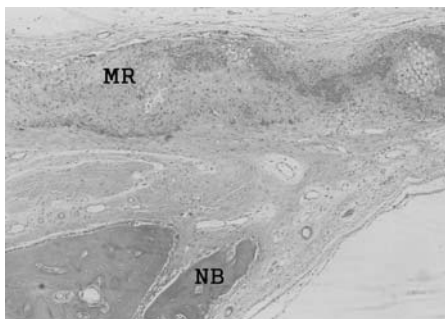


Figure 20. Biomesh®, 4 wks(HE×100)

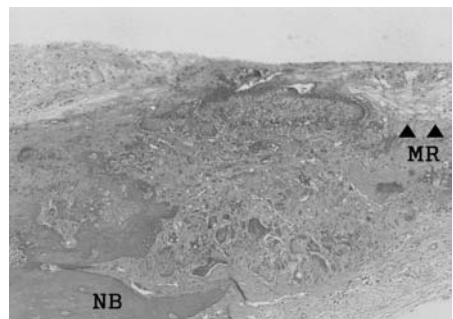


Figure 21. Biomesh®, 8wks(HE×100)

Figure 6. 백서 두개골에 직경 8mm로 실험적 결손부 형성

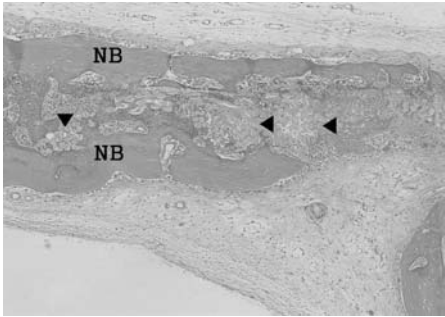


Figure 22. Biomesh®, 12wks(HE×100)

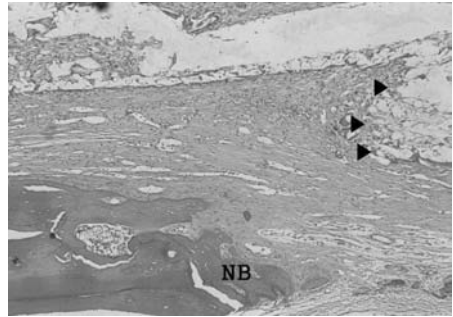


Figure 23. Exp., 4 wks(HE×100)

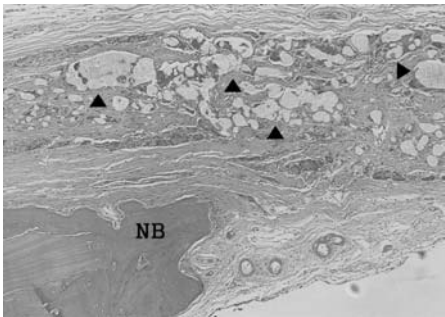


Figure 24. Exp., 8 wks(HE×100)

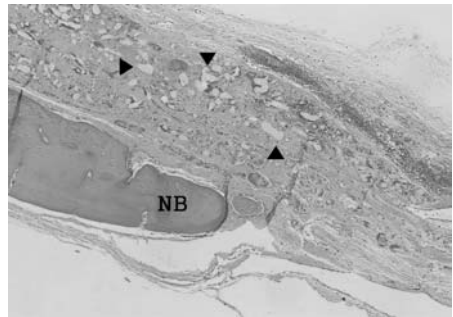


Figure 25. Exp., 12 wks(HE×100)

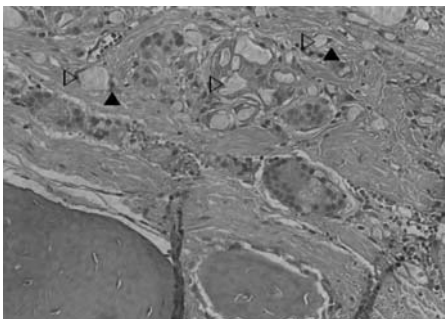


Figure 26. Exp., 12 wks(HE×400)

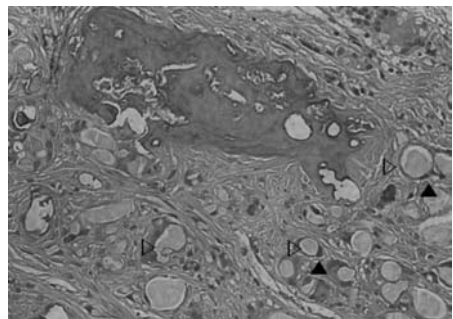


Figure 27. Exp., 12 wks(HE×400)

- Figure 7. 결손부에 차단막 위치
- Figure 8. 대조군 4주(H-E×20). 결손부 변연에 신생골이 거의 안됨.
- Figure 9. 대조군 8주(H-E×20). 결손부 변연에 소량의 신생골 형성.
- Figure 10. 대조군 12주(H-E×20). 8주에 비해 많은 신생골 형성.
- Figure 11. Biomech[®] 4주(H-E×20). 차단막이 형태를 알아볼 수 있을 정도로 거의 흡수 안됨.
- Figure 12. Biomech[®] 8주(H-E×20). 4주에 비해 차단막 흡수가 진행됨.
- Figure 13. Biomech[®] 12주(H-E×20). 흡수되고 있는 차단막 주위로 신생골 형성이 관찰됨.
- Figure 14. 실험군 4주(H-E×20). 차단막의 팽창이 관찰됨.
- Figure 15. 실험군 8주(H-E×20). 4주에 비해 급격한 차단막 흡수가 관찰됨.
- Figure 16. 실험군 12주(H-E×20). 신생골 형성이 관찰됨.
- Figure 17. 대조군 4주(H-E×100). 결손부상에 성긴 결합조직 형성이 관찰됨(CT: 결합조직, Arrows: 신생골).
- Figure 18. 대조군 8주(H-E×100). 조밀한 결합조직과 신생골 형성이 관찰됨(NB: 신생골).
- Figure 19. 대조군 12주(H-E×100).
- Figure 20. Biomech[®] 4주(H-E×100). 흡수되지 않은 차단막이 이 관찰됨(MR: 차단막 잔사).
- Figure 21. Biomech[®] 8주(H-E×100). 신생골과 차단막 잔사가 관찰됨(Arrows: 차단막 잔사).
- Figure 22. Biomech[®] 12주(H-E×100). 흡수되고 있는 차단막 주위로 신생골 형성이 관찰됨(Arrows: 차단막 잔사).
- Figure 23. 실험군 4주(H-E×100). 차단막의 팽창이 관찰됨(Arrows: 차단막 잔사).
- Figure 24. 실험군 8주(H-E×100). 4주에 비해 급격한 차단막 흡수가 관찰됨(Arrows: 차단막 잔사).
- Figure 25. 실험군 12주(H-E×100). 차단막 잔사와 신생골 형성이 관찰됨(Arrows: 차단막 잔사).
- Figure 26, 27. 실험군 12주(H-E×400). 차단막 잔사 주위로 염증세포가 관찰됨(Black arrows: 염증세포, Transparent arrows: 차단막 잔사).

사진부도 (I)
사진부도 (II)
사진부도 (III)

-Abstract-

THE BONE REGENERATIVE EFFECTS OF PARADIOXANONE ON THE CALVARIAL CRITICAL SIZE DEFECT IN SPRAGUE DAWLEY RATS

Suk-Hoon Kwon¹, Hun-Joo Suk¹, Chong-Kwan Kim¹, Han-Sung Jeong², Ik-Sang Moon¹

¹Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University, Research Institute for Periodontal Regeneration

²Department of Oral Biology, College of Dentistry, Yonsei University

The major goals of periodontal therapy are the functional regeneration of periodontal supporting structures already destructed by periodontal disease as well as the reduction of signs and symptoms of progressive periodontal disease. There have been many efforts to develop materials and therapeutic methods to promote periodontal wound healing. Bone graft & guided tissue are being used for the regeneration of destroyed periodontium these days. Non-resorbable membranes were used for Guided tissue regeneration in early days, however more researches are focused on resorbable membranes these days.

The aim of this study is to evaluate the osteogenesis of paradioxanone membrane on the calvarial critical size defect in Sprague Dawley rats. An 8 mm diameter surgical defect was produced with a trephine bur in the area of the midsagittal suture. The rats were divided into three groups: Untreated control group, Biomech[®] group and paradioxanone group. The animals were sacrificed at 4, 8 and 12 weeks after surgical procedure. The specimens were examined by histologic, histomorphometric analyses. The results are as follows:

1. In histological view on Biomech[®], no visible signs of resorption was observed at 4 weeks but progressive resorption was observed at 8 weeks through 12 weeks. Paradioxanone membrane expanded at 4 weeks, and rapid resorption was observed at 8 weeks. In both the membranes, inflammatory cells were observed around them. Inflammatory cells decreased with time but were still present at 12 weeks. More inflammatory cells were observed in paradioxanone membranes than in Biomech[®] membrane.
2. The area of newly formed bone in the defects were 0.001 ± 0.001 , 0.006 ± 0.005 , 0.002 ± 0.003 at the 4 weeks, 0.021 ± 0.020 , 0.133 ± 0.073 , 0.118 ± 0.070 at the 8 weeks and 0.163 ± 0.067 , 0.500 ± 0.197 , 0.487 ± 0.214 at the 12 weeks in the control group, Biomech[®] group and experimental group respectively. Compared to the control group, Biomech[®] group displayed significant differences at 4,8, and 12 weeks and the paradioxanone group at 8 and 12 weeks. ($P < 0.05$)