

키토산의 치주조직 재생력에 대한 연구의 고찰: 조직계측학적 메타분석

양진혁¹, 채경준¹, 윤정호³, 정의원¹, 이용근², 조규성¹, 채중규¹, 김종관¹, 최성호^{1*}

1. 연세대학교 치과대학 치주과학교실, 치주조직재생연구소
2. 연세대학교 치과대학 치과생체재료공학교실 및 연구소
3. 관동대학교 의과대학 명지병원 치과

Study of chitosan's effects on periodontal tissue regeneration: a meta-analysis of the histomorphometry

Jin-Hyuk Yang¹, Gyung-Joon Chae¹, Jeong-Ho Yun³, Ui-Won Jung¹, Yong-Keun Lee², Kyoo-Sung Cho¹, Jung-Kiu Chai¹, Chong-Kwan Kim¹, Seong-Ho Choi^{1*}

1. Department of Periodontology, Oral Science Research Center, College of Dentistry, Yonsei University
2. Department and Research Institute of Dental Biomaterials and Bioengineering, Yonsei University College of Dentistry, Seoul, Korea
3. Department of Dentistry, College of Medicine, Kwandong University, Myongji Hospital, Gyeonggi, Korea

ABSTRACT

Purpose: Chitosan & chitosan derivative(eg. membrane) have been studied in periodontal regeneration, and recently many studies of chitosan have reported good results. If chitosan's effects on periodontal regeneration are enhanced, we can use chitosan in many clinical and experimental fields. For this purpose, this study reviewed available literatures, evaluated comparable experimental models.

Materials and Methods: Ten in vivo studies reporting chitosan's effects on periodontal tissue regeneration have been selected by use of the 'Pubmed' and hand searching.

Results:

1. In Sprague Dawley rat calvarial defect models, amount of newly formed bone in defects showed significant differences between chitosan/chitosan-carrier/chitosan-membrane groups and control groups.
2. In beagle canine 1-wall intrabony defect models, amount of new cementum and new bone showed significant differences between chitosan/chitosan-membrane groups and control groups.

The mean values of the above experimental groups were greater than the control groups.

Conclusion: The results of this study have demonstrated that periodontal regeneration procedure using chitosan have beneficial effects, which will be substitute for various periodontal regenerative treatment area. One step forward in manufacturing process of chitosan membrane and in use in combination with other effective materials(eg. bone graft material or carrier) may bring us many chances of common use of chitosan in various periodontal area. (*J Korean Acad Periodontol 2008;38:7-14*)

KEY WORDS: chitosan; periodontal regeneration; calvarial defect; 1 wall defect.

서론

최근 치과계의 화두 중 하나는 심미성이다. 삶의 질적 수준이 높아지면서, 치과질환으로 상실된 치아와 치주조직을

단순히 생리적, 기능적으로 회복할 뿐만 아니라 심미적으로 회복하는 것에 대한 환자의 관심과 기대치가 높아지고 있다. 이에 부합하여 치과의사들이 치료의 중점을 심미성에도 두고 있는 것이 치과계의 경향이다. 무치악 부위에 대한 회복을 위해 임플란트 기술이 많이 행하여지는데, 기능성 회복 뿐 아니라 심미성을 위해서는 골유도재생술 등의 술식도 함께 시행해야 한다. 따라서 이러한 술식들에 대한 관심이 높아지면서 치주조직재생에 대한 활발한 연구와 실험들이 진행되고 있다.

치주조직의 재생이란 치주질환 등에 의해 상실된 부착 기구

Correspondence: Seong-Ho Choi
Department of Periodontology, School of Dentistry, Yonsei University,
134 Shin-Chon dong, Seodaemun-gu, Seoul, 120-752, Korea.
e-mail: shchoi726@yumc.yonsei.ac.kr, Tel: 82-2-2228-3189, Fax:
82-2-392-0398

* 이 논문은 2005년도 정부(교육과학기술부 기초과학연구사업)의 재원으로 지원을 받아 수행된 연구임(No. R13-2003-013-02001-0).
접수일: 2007년 12월 20일; 채택일: 2007년 12월 27일

들이 치주조직 재생능력을 가지고 있는 치주인대 조직의 분화에 의해 신생골, 신생 백악질을 형성하고 새로운 치주인대 섬유가 수직으로 매입되어 구조적, 기능적으로 재형성된 치유 형태이다. 현재 치주조직의 재생을 위해 여러 가지 골 이식술, 차단막과 성장 인자 등을 이용한 치주조직 유도재생술이 행해지고 있으며, 이 술식의 효과를 극대화하기 위해 많은 연구와 실험이 행해지고 있다.

골 이식술은 많은 임상적인 시도와 동물실험에서 좋은 결과를 나타내었다. 골 이식술은 종류에 따라 자기골 이식, 동종골 이식, 이종골 이식, 합성골 이식으로 나눌 수 있다. 이 중 골대체 물질 및 합성골 이식재가 공간 형성 능력이 좋기 때문에 골재생을 위해 주목적으로 개발되었다. 이러한 이식재들은 골 형성, 백악질 형성, 섬유소 형성 능력이 의문시되고 있으며 이러한 재료 사이로 결합조직이 증식할 수 있는 충전재로만 주로 작용하기 때문에 이를 극복하기 위한 재료의 개발이 필요하게 되었다.

또 다른 재생 술식인 치주조직 유도재생술은, 1976년 Melcher¹⁾가 치주조직의 재생과 새로운 부착은 건강한 치주인대로부터의 미분화 간엽세포에 의한다는 개념을 발표한 후, 이 개념에 의거하여 여러 종류의 차단막이 사용되어왔다. 이러한 차단막은 치은 상피세포의 치근단 방향으로의 이주를 막아 선택적 세포들만 치근면에 모일 수 있도록 함으로써, 이전의 전통적인 치주 치료의 많은 한계를 극복할 수 있는 가능성을 제시해주고 있지만 이는 재생에 필요한 세포 과정을 촉진시키지는 않았다. 또한 이 술식의 성공에는 환자의 전신 건강 상태, 구강 위생 상태, 흡연 여부, 골 결손부의 형태, 차단막의 종류, 판막의 위치, 치은 퇴축, 술자의 기술 및 치유기간 등 여러 요소들이 영향을 미친다^{2,3)}.

그 이외에도 많은 물질들이 치주조직 재생을 위해 사용되어 왔다. 골 재생능력을 증진시키기 위해 최근에는 천연 고분자물질로부터 채취된 다양한 약재나 재료가 개발되어 사용되어 왔다. 이러한 물질 들 중에서도 최근 키틴으로부터 추출된 탄수화물 생중합체인 키틴산(poly N-acetyl glycosaminoglycan)에 대한 관심이 증가하고 있다. 키틴은 생중합체 중 셀룰로스 다음으로 풍부한 물질로서, 갑각류(예; 새우, 게, 가재 등)의 외골격, 진균의 세포벽, 곤충의 큐티클을 이루는 구조 성분이다. 키틴의 화학적 구조를 보면, 안정된 다당류로서 1,4-β glucosamine 단위의 선형 중합체이다. 키틴산은 이런 키틴의 유도체로서 키틴 분자를 N-acetylation시킴으로써 형성된다. 가장 이상적인 키틴산은 키

틴을 100% 아세틸화(acetylation)시킨 glucosamine기로만 이루어진 것을 말하나 60% 이상을 가진 것이면 일반적으로 키틴산으로 불린다. 키틴과 키틴산은 효소에 의해 가수분해되어 단량체 형태로 흡수되는데, 주로 라이소자임(lysozyme)에 의해서 분해된다⁴⁻⁶⁾.

키틴산의 생물학적 기능을 살펴보면, 지방을 흡수하고 결합하여 체중 감소에 도움이 되며, 콜레스테롤 조절, 결합조직 치유 향상, 항생, 항진균, 항암 효과, 지혈 효과 등이 있다⁷⁻¹³⁾. 이러한 효과 외에도 최근 연구를 보면 창상 치유 및 골재생 유도 능력이 있음이 입증되고 있다. 1960년에 Reynold¹⁴⁾는 창상 치유 증진에 있어서 monomer sugar N-acetylglucosamine의 이용에 대한 과학적 기초를 마련하였다. 1978년에 Balassa 등¹⁵⁾은 여러 동물 실험을 통해 N-acetylglucosamine이 창상 치유 속도를 증진시킨다고 보고하였다. 또한 구강창상 증진에 있어서도 Sapelli 등¹⁶⁾이 chitosan 분말이 치주낭, 구개창상, 발치와의 치유에 도움이 된다는 임상결과를 발표하였고, Muzzarelli 등¹⁷⁾도 키틴산 겔을 치주병소에 적용하였을 때 조직화가 증진되면서 섬유화가 감소되어 치아동요 및 치주낭이 현저히 감소하였다고 보고하였다. 따라서 키틴산 및 키틴산을 이용한 차단막을 조직유도 재생술에 적용함으로써 치주조직 재생을 기대하고 환자에게 부작용을 최소화하고 경제적 부담을 경감시킬 수 있다. 따라서 이에 대해 관심을 가지고 임상적으로 범용될 수 있도록 키틴산 자체에 대한 연구들뿐만 아니라 치주조직 재생에 효과가 있는 다른 재료들과의 혼용 등을 통한 상승효과에 대한 활발한 연구들이 이루어져야 할 것이다.

본 종설 논문의 목적은 키틴산 및 키틴산을 이용한 차단막을 이용한 동물실험(in vivo study) 등¹⁸⁻²⁷⁾을 통해 검증된 키틴산의 골조직 재생 유도 능력을 분석하여 보고하는 것이다.

연구 방법

의학 정보검색프로그램 Pubmed(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/>)에서 "chitosan", "periodontal regeneration", "in vivo"의 검색어(keyword)를 사용하여 키틴산의 치주조직 재생에 관한 국, 내외 논문을 대상으로 검색하였으며, 이와 더불어 검색된 논문들의 참고문헌에서 추가로 수작업으로 수집하였다. 이 중 다음과 같은 선정기준(inclusion criteria)을 사용하여 연구대상 논문을 최종적으로 선택하였다.

Table 1. Experimental Design of Selected Studies: Form of Material, Sacrifice Point, Histometric Methods in Rat Calvarial Defect Model

Author	Type of animal	Number of animals	Year	Experimental design				
				Defect area	Defect size	Form of Material	Sacrifice point	Histometric methods
Kye et al.	Sprague Dawley rat	45	1998	Calvarium	8mm	Chitosan-cellulose	1/2/4 weeks	Area/percentage
Jung et al.	Sprague Dawley rat	30	2000	Calvarium	8mm	chitosan gel	2/4/8 weeks	Length/area/percentage
Lee et al.	Sprague Dawley rat	24	2000	Calvarium	8mm	TCP/chitosan	2/4 weeks	Area
Kim et al.	Sprague Dawley rat	30	2003	Calvarium	8mm	ASC/chitosan	2/8 weeks	Percentage
Song et al.	Sprague Dawley rat	90	2005	Calvarium	8mm	PLGA/chitosan	2/8 weeks	Length/area
Pang et al.	Sprague Dawley rat	30	2005	Calvarium	8mm	ASC/chitosan	2/8 weeks	Length/area/percentage
Park et al.	Sprague Dawley rat	8	2005	Calvarium	8mm	PLLA/chitosan	1/2 weeks	Area

ACS: absorbable collagen sponge TCP: Tricalcium phosphate PLGA: poly[lactide-co-glycolide], 25:75 PLLA: poly L-lactic acid

선정기준

1. 실험 동물(Rat, Dog)의 표준화된 골 및 치주 결손 모델을 사용한 논문
2. 조직학적 또는 조직계측학적 연구 결과가 구체적으로 조사, 명시된 논문
3. 조직계측학적 단위를 표준화시킬 수 있는 논문
선택된 논문들의 결과를 다음과 같은 항목으로 나누어 표로 정리하였다.
1. 발행년도 및 논문저자
2. 실험동물의 종류 및 개체수
3. 실험에 사용된 방법
4. 실험에서 희생까지의 치유기간
5. 조직계측학적 분석 결과

결과

검색하여 선정기준에 부합하는 논문들은 총 10편¹⁸⁻²⁷⁾이며(국내발표 5편, 국외발표 5편) 이 중 백서 두개골 결손 모델을 이용한 연구는 7편¹⁸⁻²⁴⁾이고 성견 1벽성 치주 결손 재생 모델은 3편²⁵⁻²⁷⁾이었다.

1. 백서 두개골 결손 모델을 이용한 연구

두개골 결손 모델을 이용하여 조직계측학적 연구 결과를 얻은 논문은 총 7편¹⁸⁻²⁴⁾이며 모두 동일한 실험모델을 사용하였다. 실험에 사용한 키토산의 형태는 다양하였으며 실험

동물의 희생시기도 1주/2주/4주/8주이었으며 조직계측학적 방법도 신생골의 길이, 넓이, 백분율 등으로 각 실험마다 다르게 적용되고 있다(Table 1). 조직계측학적 결과를 서로 비교하기 위해 최초의 희생시기와 최후의 희생시기만을 표기하였고, buffering 균이나 membrane만을 사용한 균 등의 양성대조군의 결과값을 제외하고 sham surgery 균의 음성대조군과 실험군의 결과값만을 표기하였다. 신생골의 면적에서 Jung 등¹⁸⁾과 Kye 등¹⁹⁾은 mm²으로 통일하여 표기하기 어려워 ×10³ μm²으로 표기하였다. 희생시기가 논문마다 차이가 있어서 신생골 면적 측정에서 Lee 등²⁰⁾은 2주/4주, Kye 등¹⁹⁾과 Park 등²¹⁾은 1주/4주가 희생시기로 정하였으며 백분율 측정에서는 Kye 등¹⁹⁾이 1주/4주로 정하였기 때문에 모두 병기하였다(Table 2).

각 실험별로 사용된 키토산의 형태는 크게 3가지 형태로 분류할 수 있는데, 키토산 수용액 단독으로 쓰인 형태, 키토산 수용액과 그 전달체로 쓰인 형태, 키토산 자체를 차단막으로 제작하여 쓰인 형태이다. Jung 등¹⁸⁾은 키토산 수용액 단독으로 쓰인 실험이며, Kim 등²²⁾, Pang 등²³⁾은 키토산 수용액과 그 전달체로 적용시킨 실험이며, Song 등²⁴⁾, Lee 등²⁰⁾, Kye 등¹⁹⁾, Park 등²¹⁾은 키토산을 가공 처리하여 차단막 형태로 제작하여 쓰인 실험이다.

Jung 등¹⁸⁾은 결손부에 수용액 형태의 키토산을 적용하였는데 두개결손부 내 신생골의 길이, 넓이, 백분율 측정에서 실험군의 측정값이 대조군에 비해 높게 나왔으며, 넓이와 백분율에서는 2주, 4주 실험군과 대조군 사이에서 통계학적으로 유의적 차이를 보였다(p<0.05).

Table 2. Histometric Results of Selected Studies in Rat Calvarial Defect Model

Author			Kye et al.	Jung et al.	Lee et al.	Kim et al.	Song et al.	Pang et al.	Park et al.
Newly formed bone length (means± SD; n=5; mm)	2wks	control		0.103±0.026			1.20±0.20	0.820±0.130	
		exp		0.220±0.098			4.10±2.10†	0.950±0.410	
	8wks	control		0.182±0.076			1.30±0.20	0.990±0.230	
		exp		0.257±0.051			3.40±1.20†	2.830±1.060*	
Newly formed bone area(means ±SD; n=5; mm ² /x10 ³ ,mm ²)	1/2 wks	control	0.09±0.02	2.96206±1.28448	114.22±47.73		0.30±0.20	0.400±0.140	0.044±0.015
		exp	0.11±0.02	5.19488±1.24788*	499.92±76.02†		1.60±0.60†	6.190±2.030*	0.127±0.005*
	2/4/8 wks	control	0.55±0.17	8.04602±0.81899	308.07±88.77		0.60±0.20	0.420±0.090	0.117±0.037
		exp	0.83±0.15*	155.7857±5.60655*	2209.71±179.15†		1.50±0.50†	4.840±0.880*	0.325±0.009*
Radiodensitometric percentage (means ±SD ; n=5%);	1/2 wks	control	10.32±2.60	14.26±6.33		4.80±0.70		88.06±7.43	
		exp	13.17±2.84	27.91±6.65*		8.70±0.70		18.52±7.83	
	4/8 wks	control	20.77±5.31	22.99±3.76		8.20±1.40		92.25±2.93	
		exp	33.38±6.13*	32.17±6.38*		62.20±6.10†		34.45±8.72	

*: Statistically significant difference compared to surgical control group(p<0.05)

†: Statistically significant difference compared to surgical control group(p<0.01)

Table 3. Experimental Design of Selected Studies in Canine 1-wall Infrabony Defect Model

Author	Type of animal	Number of animals	Year	Experimental design					
				Extraction sites	Defect size	Form of material	Defect type	Sacrifice point	Reference points for histologic analysis
Park et al.	Beagle dogs	4	2003	Mn.2 nd premolar Mn.3 rd premolar	4x4mm	ASC/ chitosa	1 wall infrabony defect	8 weeks	CEJ & notch
Yeo et al.	Beagle dogs	6	2004	Mn.1 st premolar Mn.3 rd premolar	4x4mm	Nonwoven memb.	1 wall infrabony defect	8 weeks	CEJ & notch
Han et al.	Beagle dogs	4	2007	Mn.3 rd premolar	4x4mm	Chitosan memb./TC	1 wall infrabony defect	8 weeks	CEJ & notch

Table 4. Histometric Results of Selected Studies in Canine 1-wall Infrabony Defect Model (mm)

Author	Park et al.			Yeo et al.			Han et al.		
	Surgical Control	Buffer control	Chitosan	Surgical control	RM control	CNWM	Surgical control	Chitosan	Chitosan /TC 1.0%
DH	4.20±0.13	4.04±0.10	4.1±0.12	4.48±0.56	4.88±1.11	4.86±0.24	4.35±0.15	4.36±0.14	4.29±0.14
JE	2.30±1.24	1.49±1.25	0.26±0.59*	2.32±0.33	2.04±0.57	1.77±0.70	2.02±0.78	1.85±0.47	1.72±0.15
CT	0.68±0.60	1.07±0.91	0.41±0.41	0.86±0.29	1.20±0.44	1.12±0.18	0.82±0.41	0.77±0.26	0.59±0.28
NC	1.42±0.49	1.60±0.41	3.46±3.46**.‡	1.39±0.21	1.72±0.55	2.26±0.23*	1.53±0.52	1.75±0.27	2.09±0.25*
IBC	1.27±0.43	1.41±0.41	2.57±0.57*.†	1.08±0.24	1.48±0.52	1.68±0.15*			
SBC	0.14±0.14	0.20±0.13	0.89±0.55*.†	0.31±0.05	0.24±0.09	0.58±0.10*			
NB	1.00±0.77	1.52±0.13	2.43±0.44*.†	1.17±0.31	1.54±0.71	1.81±0.16*	1.19±0.68	1.53±0.17	1.82±0.23*

*: Statistically significant difference compared to surgical control group(p<0.05)

** : Statistically significant difference compared to surgical control group(p<0.01)

‡: Statistically significant difference compared to buffer control group(p<0.01)

†: Statistically significant difference compared to buffer control group(p<0.05)

Control: surgical control; RM: resorbable membrane; CNWM: chitosan nonwoven membrane; TC: tetracycline; DH: defect height; JE: junctional epithelium migration; CT: connective tissue adhesion; NC: new cementum regeneration; IBC: infrabony cementum regeneration; SBC: suprabony cementum regeneration; NB: new bone regeneration

흡수성 콜라겐 스폰지(absorbable collagen sponge: ACS)를 키토산의 전달체로 사용한 Kim 등²²⁾의 실험에서는 신생골 형성의 백분율에서 2주/8주에서 실험군이 대조군에 비해 높은 수치가 나왔으며 8주에서 통계학적으로 유의적 차이를 보이고 있다($p < 0.05$). 같은 방법으로 실험한 Pang 등¹⁸⁾의 측정치를 살펴봤을 때, 신생골의 길이에서는 8주에서, 신생골의 면적에서는 2주/8주에서 실험군과 대조군 사이의 측정값의 차이가 크고 통계학적으로 유의적 차이를 보였다($p < 0.05$). 그러나 신생골 백분율은 실험군이 대조군에 비해 낮은 수치를 보이고 있다.

키토산 차단막을 가공처리하여 PLGA(poly[lactide-co-glycolide], polylactic: polyglycolic=25:75)를 표면 처리(coating)한 Song 등²⁴⁾의 실험에서는 신생골 길이, 면적의 측정 수치가 2주/8주에서 모두 실험군이 대조군에 비해 높았으며 통계학적으로 유의적 차이를 가졌다($p < 0.01$). TCP(Tricalcium phosphate)/키토산 차단막을 사용한 Lee 등²⁰⁾의 실험에서는 신생골 면적 측정값이 2주/4주 모두에서 실험군이 대조군에 비해 높은 수치를 나타냈으며 통계학적으로 유의적 차이를 보이고 있다($p < 0.01$). 키토산-cellulose 차단막을 사용한 Kye 등¹⁹⁾의 실험에서는 신생골의 면적과 백분율에서 1주/4주 모두 실험군이 대조군에 비해 측정치가 높았으며, 면적, 백분율에서 4주에서만 통계학적으로 유의적 차이를 보였다($p < 0.05$). Park 등²¹⁾이 실험한 키토산-PLLA(Poly L-lactic acid)에서 신생골 면적에서 실험군이 대조군에 비해 높은 측정치를 보이고 있으며 통계학적으로 유의적 차이를 보였다($p < 0.05$).

2. 성견 1벽성 치주결손 재생 모델을 이용한 연구

성견 1벽성 치주결손 재생 모델을 이용하여 키토산 실험을 한 경우는 모두 3편²⁵⁻²⁷⁾의 논문이었다. Park 등²⁵⁾은 상악 제2소구치, 하악 제3소구치를 발치하고 흡수성 콜라겐 스폰지(absorbable collagen sponge: ACS)를 키토산의 전달체로 사용하였으며, Yeo 등²⁶⁾은 하악 제1, 3 소구치를 발치하고 부직포형태의 키토산 차단막(CNWM: chitosan nonwoven membrane)을 사용하였다. Han 등²⁷⁾은 하악 제3소구치를 발치하고 키토산 차단막에 항생제를 첨가한 실험을 시행하였다. 항생제는 테트라사이클린(tetracycline)을 사용하였으며 키토산 차단막을 각 0.5%, 1.0% 테트라사이클린에 표면 처리(coating)하였는데, 1.0%에 표면 처리한 것만 표

기하였다. 실험 모두 발치 후 치유기간을 8주 가졌으며 8주 후에 실험동물을 희생하였다(Table 3).

세 실험 모두에서 공통적으로 신생 백악질 재생(NC: new cementum regeneration), 골내 신생 백악질 재생(IBC: infrabony cementum regeneration), 골외 신생 백악질 재생(SBC: suprabony cementum regeneration), 신생골 재생(NB: new bone regeneration)에서 실험군의 결과값이 음성대조군(surgical control group)에 비해 높게 나왔으며 통계학적으로 유의적 차이를 보였다($p < 0.05$, 박 등 NC: $p < 0.01$). 이 수치들의 비교는 Table 4에 정리하였다.

Park 등²⁵⁾은 ACS를 키토산 수용액에 적셔서 결손부에 적용시켰는데, 접합상피이동(JE: junctional epithelium migration)이 음성대조군(surgical control group)에서 2.30 ± 1.24 mm로 전체 결손부의 54.7%를 기록했으며 양성대조군(buffering control group)은 1.49 ± 1.25 mm은 전체 결손부의 36.9%를 차지한 반면에 실험군(chitosan group)에서는 0.26 ± 0.59 mm로 전체 결손부의 6.0%에 해당하는 수치를 기록했다. 음성대조군과 실험군 간의 통계학적으로 유의적 차이를 보였다($p < 0.05$). 결합조직 부착(CT: connective tissue adhesion)은 군들간의 차이가 없었으며, 백악질 재생(NC)은 실험군이 음성대조군(33.7%), 양성대조군(39.5%)에 비해 높은 수치(83.8%)를 나타냈으며 통계적으로 유의적 차이를 나타내었다($p < 0.01$). 신생골 재생의 측정값을 살펴보면 음성대조군에서는 1.00 ± 0.77 으로 전체 결손부의 23.9%이며 양성대조군의 값은 1.52 ± 0.13 으로 37.6%, 실험군의 값은 2.43 ± 0.44 mm로 58.8%이어서 대조군들의 값에 비해 높은 값들을 보이며 통계학적으로 유의적 차이를 보이고 있다($p < 0.05$).

Yeo 등²⁶⁾은 부직포 형태의 키토산 차단막을 결손부에 적용시켰는데, 접합상피이동(JE)이나 결합조직 부착값(CT: connective tissue adhesion)들을 살펴보면, 실험군과 대조군들간의 차이가 거의 없어 통계학적으로 유의적인 차이가 없다. 신생 백악질 재생값이나 신생골의 재생값에서는 실험군의 값들(NC: 46.5%, NB: 37.2%)은 음성대조군의 값들(NC: 31.0%, NB: 26.1%)보다 높은 수치를 가지고 있으며 통계학적으로 유의적 차이를 보이고 있으나($p < 0.05$), 실험군과 양성대조군의 값들(NC: 35.2%, NB: 31.5%)의 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다.

Han 등²⁷⁾의 연구에서 보면, 키토산 차단막만을 적용한 경우

에는 대조군과 크게 차이가 나지 않지만 항생제(TC: tetracycline)와 함께 적용한 경우에는 통계학적으로 유의한 차이를 나타내고 있다($p < 0.05$).

고찰

치주질환으로 상실된 치아 및 치주조직의 회복을 위해 최근 치주조직재생에 관한 연구와 실험이 활발히 이루어지면서 술식 자체뿐만 아니라 재생능력의 최대화를 위한 재료의 개발과 응용에 대한 관심이 매우 높다. 치주조직의 재생을 위해 다양한 종류의 이식재와 차단막이 연구되고 또한 실제 임상에 응용되고 있으나, 아직까지 각각의 한계점을 가지고 있다. 최근 생체 적합성과 항균작용, 창상 치유 촉진 등의 생물학적 작용, 우수한 기계적 특성으로 관심이 증가하고 있는 키토산은 키틴을 강알칼리로 처리하여 탈 아세틸화 시킨 유도체로서 구조적으로 하이알루론산과 유사한 polycationic complex carbohydrate이며 분자량은 800~1500 kd인 생체 분해성 물질이다. 일반적으로 다당류의 경우에는 효소에 의해 가수분해가 일어나며, 키틴과 키토산의 경우에도 이러한 기전으로 분해되는 것으로 보고되고 있는데 라이소자임(lysozyme)이 가장 효과적인 효소로 알려져 있다. 라이소자임의 경우 외부 자극이 없는 경우에도 대식세포에 의해 지속적으로 분비되는데, 체내에 매식된 키토산은 대식세포를 자극하게 되어 라이소자임의 분비를 증진시키게 된다.

Klokkevold 등²⁸⁾과 Paik 등²⁹⁾의 *in vitro* 실험에서 키토산이 백서 두개골 세포의 석회화 결정 형성에 영향을 미친다고 하였다. 또한 키토산이 조골세포와 같은 골전구세포의 이동과 분화를 촉진시키는 기질의 역할을 하는 반면에 골 형성을 방해하는 세포의 기능을 억제하여 간접적으로 골 형성을 증진시킬 수 있다고 하였다. Malette 등³⁰⁾이나 Muzzarelli 등^{17,31)}은 동물실험을 통해 키토산이 골 형성을 증진시킨다는 사실을 보고하였다.

본 연구에서 살펴본 백서 두개골 결손 모델¹⁸⁻²⁴⁾에서 키토산의 골재생 유도 능력을 평가하였다. 호르몬 변화나 치유능 등의 변수로 인해 완전히 성숙한 수컷 백서를 실험에 사용하였다. 결손부의 크기를 지름 8 mm 원형으로 하였는데, 이는 10% 이하의 골 재생을 이루는 가장 작은 크기의 결손부인 임계 크기 결손(Critical size defect)에 근거한 것이

다. 골재생 유도 능력을 평가하는 방법으로 사용된 조직계측학적 비교에서는 신생골 길이, 단면적 또는 백분율을 계측함으로써 양적 비교를 할 수 있었다. 키토산을 다양한 형태로 다르게 적용한 실험들을 비교할 수 있었는데, 김 등을 제외한다면 신생골 형성의 면적으로 각 측정값을 비교할 수 있다. 키토산을 직접 적용시키거나 차단막을 사용한 실험값들보다 흡수성 콜라겐 스폰지(absorbable collagen sponge: ACS)와 같은 전달체를 사용한 실험값이 더 높은 수치를 보임을 알 수 있다. 최후 희생시기의 대부분의 신생골 형성량의 값들이 대조군에 비해 높게 나타났고 통계학적으로 유의한 차이를 보이고 있다. 본 연구에서 보고한 결과를 바탕으로 볼 때 키토산은 골재생을 증진시키는 효과를 함유한 재료라고 결론을 내릴 수 있다. 단 그 효과를 최대화하기 위해서는 직접 적용시키는 방법보다는 효과적인 전달체를 이용하거나 차단막 기술을 발달시켜야 할 것이다.

성견 치주 결손 재생 모델²⁵⁻²⁷⁾에서 키토산의 치주재생 능력을 평가하기 위해 1면 결손부에 키토산을 적용하였다. 1면 결손부에서는 자연적 골재생이 힘든 경우이므로 실험재료의 골재생 능력을 평가하기에는 적당한 실험모형으로 볼 수 있겠다. 조직계측학적 관찰을 통한 수치들을 비교하였을 때, 키토산이나 키토산 차단막을 적용한 실험 모두에서 신생골이나 신생 백악질의 형성이 대조군에 비해 높은 수치를 보이고 있으며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다. 이 연구에서 사용된 실험모델들은 적은 실험 개체수로 인한 제한된 결과라는 한계점을 가지나, 비교된 모든 연구의 측정된 결과값들은 키토산의 치주조직 재생력이 효과적이라는 것을 충분히 입증해 준다. Yeo 등²⁶⁾의 실험에서 키토산 차단막을 사용한 실험군의 신생 백악질, 신생골의 값들이 흡수성 차단막(RM: resorbable membrane)을 사용한 양성대조군에서의 값들과 비교할 때 통계학적으로 유의적 차이를 보이지 않았다는 것은 키토산 차단막이 이미 우수성이 입증된 흡수성 차단막과 별차이 없이 우수한 치주재생능력을 보여주고 있는 것이다. Han 등²⁷⁾의 실험에서는 키토산 차단막 자체는 대조군과 통계적으로 유의성 있는 차이를 보이지 않으나 항생제를 함께 사용한 실험군에서 더 좋은 결과가 나타났다. 이는 항생제가 구강 내 환경에서 초기 치유 시 감염과 염증에 효과적으로 작용하여 키토산 차단막의 효과를 증대시켰음을 예상해 볼 수 있겠다.

키토산의 치주재생 능력을 알아보는 실험들의 비교 평가를

통해 다음과 같은 결론을 내릴 수 있다.

첫째, 백서 두개골 결손 모델 실험들에서 키토산 직접 적용, 운반체를 이용한 키토산 적용, 키토산 차단막의 적용 모두에서 신생골 형성량의 측정값이 대조군에 비해 높게 나왔다.

둘째, 성견 1벽성 치주 결손 재생 모델 실험들에서 키토산 직접 적용, 키토산 차단막 적용 모두에서 신생 백악질, 신생골 재생량의 측정값이 대조군에 비해 높게 나왔다.

이와 같이 여러 연구들을 종합하여 본다면, 키토산을 이용한 치주조직 재생유도술 시 좋은 치유 효과가 있는 것으로 보이며, 따라서 치주질환에 이환된 치주조직의 골조직 유도 재생을 위한 대체재료로 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 다른 이식재의 혼용이나 효과적인 전달체, 차단막의 제조, 공정기술을 발달시킨다면 키토산의 치주조직 재생능력을 극대화시켜 더 범용될 수 있으리라 생각된다.

참고문헌

1. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976;47:256-260.
2. Machtei E, Cho M, Dunford R et al. Clinical, microbiological and histological factors which influence the success of regenerative periodontal therapy. *J Periodontol* 1994;65:154-161.
3. Tonetti M, Pini PG, Cortellini P. Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery. *J Clin Periodontol* 1996;23:548-556.
4. Amno K, Ito E. The action of lysozyme on partially deacetylated chitin. *Eur J Biochem* 1978;85:97-104.
5. Pangburn SH, Trescony PV, Hekker J. Lysozyme degradation of partially deacetylated chitin, its films and hydrogels. *Biomaterials* 1982;3:105-108.
6. Shigemasa Y, Saito K, Sashiwa H, Saimoto H. Enzymatic degradation of chitins and partially deacetylated chitins. *Int J Biol Macromol* 1994;16:43-49.
7. Brandenburg G, Leibroach LG, Shuman R, Malette WG, Qiuglely H. Chitosan: A new topical hemostatic agent for diffuse capillary bleeding in brain tissue. *Neurosurg* 1984; 15:9-13.
8. Kind GM, Bind SD, Staren ED, Tempeton AJ, Economou SG. Chitosan: Evaluation of a new hemostatic agent. *Curr Surg* 1990;47:37-39.
9. Klokkevold PR, Fukayama H, Sung EC, Bertolami CN. The effect of chitosan (poly-N-acetyl glucosamine) on lingual hemostasis in heparinized rabbits. *J Oral Maxillofac Surg* 1999;57:49-52.
10. Klokkevold PR, Lew DS, Ellis DG, Bertolami CN. Effect of chitosan on lingual hemostasis in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg* 1991;49:858-863.
11. Muzzarelli RA, Baldassarre V, Conti F, Ferrara P, Biagini B. Biological activity of chitosan: Ultrastructural study. *Biomaterials* 1998;9:247-252.
12. Muzzarelli RA. In vivo biochemical significance of chitin-based medical items, *Polymeric Materials for Biomedical Applications* (Eds S Dumitriu and M Szycher), Marcel Dekker, New York, USA; 1992.
13. Sandford PA. Chitosan: Commercial uses and potential applications, In: Skjak-Braek G., Anthonsen T, Sandford P, eds. *Chitin and Chitosan*. London: Elsevier Applied Science; 1989;51-70.
14. Reynolds BL. Wound healing III; Artificial maturation of arrested regenerate with an acetylated amino sugar. *Am Surgeon* 1960;26:113-117.
15. Balassa LL, Prudden JF. Applications of chitin and chitosan in wound healing acceleration, In: Muzzarelli RA, Pariser ER, eds. *Proceedings of the 1st International Conference on Chitin and Chitosan*. Cambridge, MA: MIT Press; 1978.
16. Sapelli PL, Baldassarre V, Muzzarelli RA, Emanuelli M. Chitosan in dentistry. *Chitin in Nature and Technology* 1986:507-512.
17. Muzzarelli RA, Biagini G, Pugnaroni A, Filippini O, Baldassarre V. Reconstruction of periodontal tissue with chitosan. *Biomaterials* 1989;10:598-603.
18. Jung UW, Suh JJ, Choi SH et al. The bone regenerative effects of chitosan on the calvarial critical size defect in Sprague Dawley rats. *J Korean Acad Periodontol* 2000;30: 851-870.
19. Kye SB, Son SH, Choi SM. Guided bone regenerative effect of chitosan and chitosan-cellulose membranes. *J Korean Acad Periodontol* 1998;28:611-625.
20. Lee YM, Park YJ, Lee SJ et al. The bone regenerative effect of platelet-derived growth factor-BB delivered with a chitosan/tricalcium phosphate sponge carrier. *J Periodontol* 2000;71:418-424.

21. Park JB, Nam SH, Kim KH et al. Evaluation on biocompatibility, bone cell activity and bone regenerative capacity of chitosan-PLLA bilayer porous membrane. *J Korean Acad Periodontol* 2005;35:549-561.
22. Kim SK, Suk HJ, Kim CS et al. The effect of chitosan/ACS on bone regeneration in rat calvarial defects. *J Korean Acad Periodontol* 2003;33:457-574.
23. Pang EK, Paik JW, Kim SK et al. Effect of chitosan on human periodontal ligament fibroblasts in vitro and on bone formation in rat calvarial defects. *J Periodontol* 2005; 76:1526-1533.
24. Song KY, Kim CK, Chae JK et al. The effect of Collagen and Chitosan membrane coated with PLGA on Bone regeneration in Rat Calvarial defects. Seoul: Yonsei university 2005;p37 Dissertation.
25. Park JS, Choi SH, Moon IS et al. Eight-week histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs. *J Clin Periodontol* 2003;30:443-453.
26. Yeo YJ, Jeon DW, Kim CS et al. Effects of chitosan non-woven membrane on periodontal healing of surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs. *J Biomed Mater Res* 2005;72:86-93.
27. Han KH, Chae GJ, Choi JY, Choi et al. The effects of chitosan-tetracycline membrane on periodontal regeneration of one-wall intrabony defects in beagle dogs. *Key engineering materials* 2007;342-343:361-364.
28. Klokkevold PR, Vandermark L, Kenney EB, Bernard GW. Osteogenesis enhanced by chitosan (Poly-N-Acetyl Glucosaminoglycan) in vitro. *J Periodontol* 1996;67:1170-1175.
29. Paik JW, Lee HJ, Yoo YJ et al. The effects of chitosan on the human periodontal ligament fibroblasts in vitro. *J Korean Acad Periodontol* 2001;31:823-832.
30. Malette WG, Quigley HJ, Adickes ED. Chitin in nature and technology. In; Muzzarelli RA, Jeuniaux C, Gooday GW, eds. *Chitosan Effect in Nature and Technology*. New York: Pleum press;1986;435-442.
31. Muzzarelli RA, Mattioli-Belmonte M, Tietz C et al. Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan. *Biomaterials* 1994;15:1075-1081.