

토끼 두개골 결손부에서 블록형과 분말형 hydroxyapatite의 골전도 효과

구순자¹, 손주연¹, 임현창¹, 엄유정¹, 정의원¹, 김창성¹, 이용근², 최성호^{1*}

1. 연세대학교 치과대학 치주과학교실, 치주조직재생연구소

2. 연세대학교 치과대학 치과생체재료공학교실

The effects of bone regeneration in rabbit calvarial defect with particulated and block type of hydroxyapatite

Sun-Ja Gu¹, Joo-Yeon Sohn¹, Hyun-Chang Lim¹, Yoo-Jung Um¹, Ui-Won Jung¹, Chang-Sung Kim¹, Yong-Keun Lee², Seong-Ho Choi^{1*}

1. Department of Periodontology, Research institute of periodontal regeneration, College of Dentistry, Yonsei University

2. Department and Research Institute of Dental Biomaterials and Bioengineering, College of Dentistry, Yonsei University

ABSTRACT

Purpose: The purpose of this study was to evaluate the bone regeneration of particulated hydroxyapatite(HA) and block type of hydroxyapatite graft in rabbit calvarial defects.

Methods: An 8 mm calvarial circular defects were created in sixteen young adult New Zealand white male rabbits (weight 3.0~3.5 kg). Each defects were filled with Bio-Oss, particulated HA and block type HA. Sham surgery control defects were filled with blood clots. The specimens were harvested at 4 weeks and 8 weeks for histologic and histomorphometric evaluation.

Results: Histomorphometric analysis demonstrated statistical differences in defect closure, new bone formation, and bone density of the four groups. Block type of HA group showed increased bone formation and bone density at 4 weeks and 8 weeks compared with Bio-Oss group or sham surgery control group($p<0.05$).

Conclusions: Block type of HA is an effective material for osteoconduction in rabbit calvarial defects, which may acts as a guide in use of these products in human application. (*J Korean Acad Periodontol 2009;39:321-329*)

KEY WORDS: bone regeneration; bone substitutes; hydroxyapatites.

서론

상실된 치주 조직을 회복시키거나 임플란트 식립을 위한 골재생을 목적으로 골이식술이 사용되고 있다. 다양한 이식재 중에서 자가골은 면역반응이 없고 골형성능력(osteogenesis)을 가진 이식재로 여러 연구를 통해 골재생 능력이 증명되었다¹⁻²⁾. 그러나 치근흡수, 공여부의 부가적 수술로 인한 감염 등의 합병증이 발생할 수 있으며, 종종 충분한 양을 획득

하지 못하는 단점이 있어 대안으로 동종골, 이종골, 합성골 등이 개발되어 사용되고 있다¹⁻⁶⁾.

동종골은 동결건조 및 탈화동결건조하여 입자, 젤 등의 형태로 제공된다. 조직 처리 과정에서 모든 골원성 세포들이 파괴되어 이식부에서 항원으로 작용하지는 않지만, 공여 자 질환의 교차 감염 가능성이 있다. 또, 이식체의 연령과 공여부 골상태, 조직의 준비 과정에 따라 골형성 유도능력에 차이를 보여 연구마다 다양한 결과가 보고되었다¹⁻⁶⁾.

이종골은 동물에서 채취된 이식골로 공급량에 제한이 없지만, 이식체 항원 물질에 의한 질병 전이의 가능성을 완전히 제거하지 못한 상태이다. 이종골 이식재 중 Bio-Oss (Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland)는 송아지에서 채취하여 거의 모든 유기질을 제거한 것으로 인체 골조직과

Correspondence: Dr. Seong-Ho Choi

Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University, 134 Shinchon-dong Seodaemun-gu, Seoul, 120-752, Korea

E-mail: shchoi726@yuhs.ac, Tel: 02-2228-3189, Fax: 02-392-0398

Received: Jun 8, 2009; Accepted: Aug 9, 2009

이 논문은 2008년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(R13-2003-013-04002-0).

유사한 구조를 가진다⁷⁻⁸⁾. 이것은 조직 내에서의 흡수 속도가 매우 느리고 장기간 잔존하기 때문에 이를 이용하여 치조골의 형태를 수정한 경우에 외형을 오래 유지할 수 있다고 보고되었다⁹⁻¹⁰⁾. 또, 동물 실험에서 self-contained bone defect에 흡수성 막과 함께 사용하였을 때, 이식재 입자가 높은 비율로 기존골과 접촉한다고 보고되었다¹¹⁾.

합성골은 질병 전이가 없고 구하기 쉬우며 비교적 비용이 저렴하나, 이식재의 조기 흡수, 낮은 골형성 능력 등의 단점을 가진다¹²⁾. 이에 다양한 제작 방법으로 이상적인 재료를 제작하기 위한 연구가 진행되고 있다. 합성골 중 calcium phosphate 재료, 특히 hydroxyapatite(HA)와 β -tricalcium phosphate(β -TCP)는 생체적합성이 우수하고 자연골과 유사한 조성을 가지고 있어 많은 연구가 진행되어 왔다¹³⁻¹⁴⁾. 이 중 HA는 그 화학식이 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 이며 Ca/P 비율이 1.67로 자연골을 구성하는 성분과 가장 유사하다. HA는 생활성·생체적합성을 보이며, 골전도성을 가지고 있고, 뼈와 직접적인 결합을 하는 것으로 보고되었다¹⁵⁾. HA를 이용한 실험 결과, 생체적합성이 장기간 우수하게 유지되고 연조직, 골조직과의 원활한 상호작용이 관찰되었으며 면역 거부 반응 없이 골조직과 결합한다고 보고되었다¹⁶⁻¹⁷⁾. HA는 인공적으로 습식법, 고상법, 수열법, 열분해 반응 등의 방법으로 제작할 수 있으며, 다른 이온의 첨가 및 결정화도에 변화를 주는 방법으로도 제작 가능하다. HA는 골을 형성하기 위한 좋은 골전도성 재료로 이용될 수 있지만, 단독 사용 시 흡수 기간이 길고 골재생 능력이 떨어지는 것으로 알려져 있다¹⁸⁻¹⁹⁾.

본 연구에서는 외과적으로 형성된 토끼의 두개골 결손부에서 $4.5\mu\text{m}$ 입径의 분말형 HA와 86%의 기공률을 가지는 블록형 HA를 이식하여 4주, 8주 후의 골전도 효과를 조직학적, 조직계측학적으로 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1) 실험 동물

3.0~3.5 kg 무게의 생후 9~20개월 된 16마리의 토끼(New Zealand white male rabbit)를 사용하였다. 실험 동물 선정과 관리, 외과적 처치는 연세대학교 의과대학 임상 의학연구센터의 지침에 따라 시행되었다.

2) 실험 재료

(1) HA 분말형 골이식재

HA(Sigma, St. Louis, USA)를 attrition mill을 이용하여 400 rpm으로 6시간 분쇄한 후, 400 mesh의 체가름을 시행하여 평균 입경 $4.5\mu\text{m}$ 의 HA 분말을 제작하였다.

(2) HA 블록형 골이식재

HA를 블록 형태로 제작하기 위해 $4.5\mu\text{m}$ 의 분말을 증류수에 분산시켜 현탁액을 제조하였다. 증류수에 결합제인 폴리비닐 알코올(PVA1500, Duksan Pure Chemical co., Korea)을 5 wt% 첨가하고, 분산제로 ammonium poly-methacrylate(Darvan C, Vanderbilt Company Inc., USA)를 첨가하였다. HA 분말의 양을 60 wt%로 하였으며, 재료들을 24시간동안 균일하게 혼합하였다.

3차원적 다공체를 제조하기 위해 폴리우레탄 에스터 스펀지를 이용하였다. 이 다공체를 친수화하고 적당한 표면 거칠기를 제공하기 위해 NaOH를 이용하여 표면처리 하였다. 3차원적 고분자 스펀지에 HA 슬러리가 스며들게 하고 압축 공기를 분사하여 기공이 막히지 않도록 균일하게 피복한 다음 건조, 소결, 냉각하여 블록형 HA 골이식재를 제작하였다. 이 골이식재는 86% 이상의 기공률을 가지며, 기공은 3차원적으로 서로 연결되었고 크기가 $100\sim 400\mu\text{m}$ 이상이였다.

2. 연구 방법

실험 동물에 Ketamine hydrochloride(Ketalar[®], Yuhan Co., Seoul, Korea)와 xylazine(Rumpun[®], Bayer Korea Ltd., Seoul, Korea)을 주입하여 전신 마취를 유도한 후 두개부 수술 부위를 povidone iodine으로 소독하였다. 수술 부위를 2% lidocaine으로 침윤 마취한 후 전두골의 전방부에서 후방부까지 중앙부를 따라 절개하였다. 골막까지 거상하여 두개골을 노출시킨 후 뇌경막에 손상을 주지 않도록 주의하면서 외경 8 mm trephine bur를 이용하여 4개의 원형 골결손부를 형성하였다(Fig. 1). 각각의 결손부를 다음과 같이 구분하여 처치하였다(Fig. 2). 1) 대조군 : 골 결손부가 혈병으로만 채워지도록 유도, 2) Bio-Oss군 : 골 결손부에 Bio-Oss(Geistlich Pharma, Wollhusen, Switzerland)를 이식, 3) 분말형 HA군 : 골 결손부에 분말형 HA를 이식, 4) 블록형 HA군 : 골 결손부에 블록형 HA를 이식하였다. 골막과

피하조직을 흡수성 봉합사로 봉합하고 두피는 4-0 Nylon으로 봉합하였다. 수술 후 1주일간 항생제 Gentamicin(5 mg/kg)을 근육 주사하였으며, 1주일 후에 발사하였다.

3. 평가 방법

1) 임상적 관찰

육안적으로 수술 부위의 특이 사항 및 염증 소견, 합병증 발생을 관찰하였다.

2) 조직학적 관찰

수술 4주, 8주 후에 phentobarbital(100 mg/kg)을 정맥 내 주사하여 희생시킨 후 두개골 절편을 채득하였다. 10% formalin에 고정한 후 탈회 과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 표본을 7µm 두께로 관상면에서 절단하고 hematoxylin-eosin(H-E)로 염색하였다. 표본을 광학현미경 상에서 10배, 100배 배율로 관찰하였다.

3) 조직 계측학적 관찰

100배율로 확대된 조직 표본상을 컴퓨터 모니터 상에 재현하고 3차원 영상 분석 프로그램(Image-Pro Plus, Media cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA)을 이용하여 신생골에서 다음의 항목을 측정, 계산하였다. 1) 결손부 피 개율(%): 결손부의 변연의 거리에서 신생골 변연의 거리가 피개하는 비율, 2) 조직 중대 면적(mm²): 신생골과 신생 결합조직, 지방 조직, 혈관, 잔존하는 이식재료들의 면적의 총합, 3) 신생골 면적(mm²): 조직 중대 면적 내에서 광화된 신생골 만의 면적, 4) 골 밀도(%) = 신생골 면적 / 조직 중대 면적 × 100

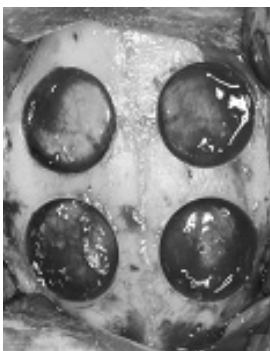


Figure 1. Calvarial defect formation.

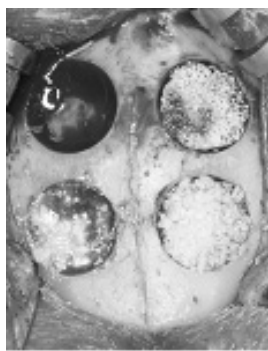


Figure 2. Calvarial defects were filled with block type HA, particulated HA, Bio-Oss.

4. 통계적 분석

각 군의 계측값을 SAS 통계분석시스템을 이용하여 처리하고, two-way analysis of variance(ANOVA)를 이용하여 각 군의 유의차를 평가하였다.

결과

1. 임상적 관찰

모든 동물에서 치유 기간 동안 특이할 만한 염증 소견 및 다른 합병증은 관찰되지 않았다.

2. 조직학적 관찰

1) 대조군(혈병으로만 채워지도록 유도)

4주 후 소견에서 결손부는 대부분 성긴 결합 조직으로 채워져 있었으며, 만성 염증 세포의 침윤 및 모세혈관의 증식이 관찰되었다(Fig. 3). 결손부 변연과 인접한 부위에서 소량의 신생골이 형성되었다. 8주 후 소견에서 변연과 인접한 부위의 신생골 형성량이 증가하였고, 결합 조직은 조직화되어 규칙적으로 배열되었다(Fig. 4).



Figure 3. Histologic section of control group at 4 weeks (×10, H-E). Arrow head: defect margin.

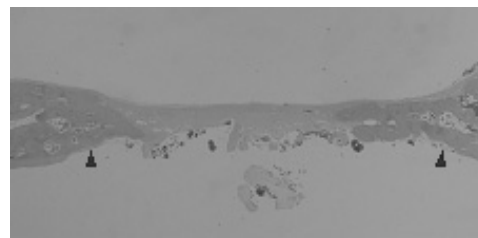


Figure 4. Histologic section of control group at 8 weeks (×10, H-E). Arrow head: defect margin.

2) Bio-Oss 이식군

4주 후 소견에서 결손부 변연과 이식재 입자 주변으로 신생골이 형성되었다. 그러나 결손부의 많은 부분은 잔존 이식재 입자와 섬유성 결합 조직으로 채워져 있었다(Fig. 5). 이식재 입자 주변으로 신생골이 입자를 둘러싼 형태로 형성되거나 신생골 주위로 결합 조직의 캡슐화가 관찰되었다. 신생골은 결체 조직 사이에서 분리된 양상으로 관찰되었다. 8주 후에는 결손부 변연과 이식재 주변으로 신생골의 양이 약간 증가하였으며 4주 소견과 비슷한 양상으로 관찰되었다(Fig. 6, 7).

Figure 5

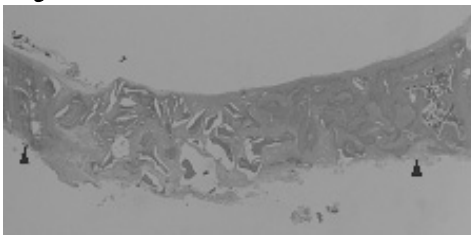


Figure 7

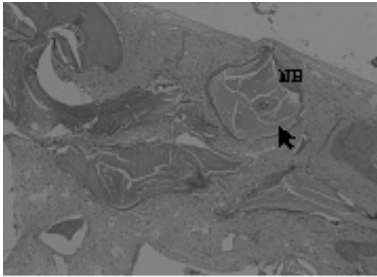
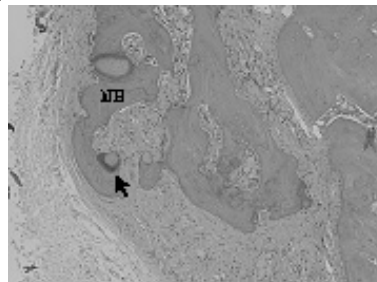


Figure 8



Figure 10



3) 분말형 HA 이식군

4주 후 소견에서 잔존 이식재 주변으로 염증 세포의 침윤이 관찰되었고, 결손부의 중심부는 잔존 이식재와 결합조직으로 채워져 있었다(Fig. 8). 결손부 변연과 인접한 부위에서 신생골이 관찰되었다. 입경이 작은 이식재는 서로 뭉쳐져서 혼재된 양상으로 관찰되었다. 8주 후 소견에서는 이식재의 많은 부분이 흡수되었으며, 신생골 형성량이 약간 증가하였다(Fig. 9, 10).

Figure 6

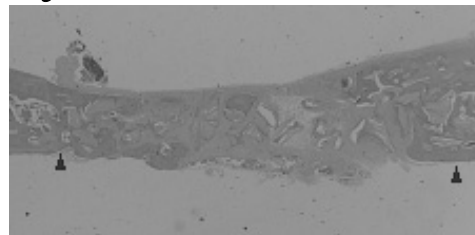


Figure 5. Histologic section of Bio-Oss group 4 weeks ($\times 10$, H-E). Arrow head: defect margin.

Figure 6. Histologic section of Bio-Oss group at 8 weeks ($\times 10$, H-E). Arrow head: defect margin.

Figure 7. Higher magnification of Bio-Oss group presenting new bone (NB) with Bio-Oss remnants (arrow). ($\times 100$, H-E).

Figure 9

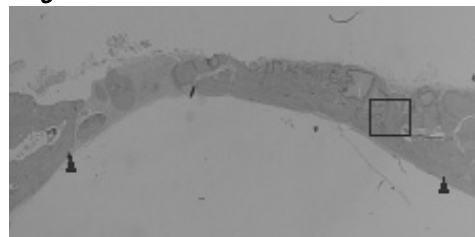


Figure 8. Histologic section of particulated HA group at 4 weeks ($\times 10$, H-E). Arrow head: defect margin.

Figure 9. Histologic section of particulated HA group at 8 weeks ($\times 10$, H-E). Arrow head: defect margin.

Figure 10. Higher magnification of particulated HA group presenting new bone (NB) with HA remnants (arrow). ($\times 100$, H-E).

4) 블록형 HA 이식군

4주 후 소견에서 블록형 HA 이식재는 인접골과 잘 접촉되어 연결되어 있었다(Fig. 11). 기존골과 인접한 부위뿐만 아니라 결손부의 중심부에서도 신생골 형성이 관찰되었다. 블록형 골이식재 중심부는 외경막과 인접한 부위에서 신생골이 형성되었으며, 그 부위 기공의 크기는 작아져 있었다. 결손부는 완전한 골 가교(bony bridging) 형성에 의해 치유되었고, 신생골은 성숙한 형태로 배열되었다. 8주 후 소견에서 블록형 골이식재가 더 많이 흡수되면서 신생골로 대체되었으며 많은 신생 혈관이 관찰되었다(Fig. 12~14).

3. 조직 계측학적 분석

Bio-Oss와 블록형 HA를 이식한 군에서는 이식재의 사이

로 신생골이 형성되면서 완전한 골 가교를 형성하여 8주 후 100% 결손부 피개율을 보였다(Table 1). 모든 군에서 4주, 8주에 대조군보다 통계적으로 유의하게 결손부 피개율이 높았다. 기간에 따른 결손부 피개율의 차이는 통계적으로 유의하지 않았다.

결손부의 조직 증대 면적은 기간에 따른 유의한 차이가 없었으며, Bio-Oss 이식군과 비교하였을 때 블록형 HA 이식군이 4주, 8주에 통계적으로 유의하게 더 많은 조직이 증대되었다(Table 2).

신생골 형성 면적은 완전히 광화된 부위만을 측정하여 결합조직이나 혈관 조직 등이 차지하는 공간을 제외하였다. 블록형 HA군에서 4주, 8주째에 가장 많은 신생골이 형성되었다(Table 3).

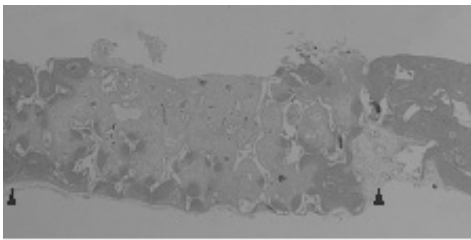


Figure 11. Histologic section of block type HA group at 4 weeks ($\times 10$, H-E). Arrow head: defect margin.

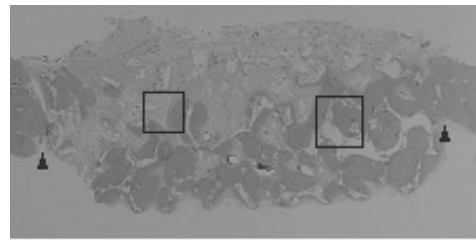


Figure 12. Histologic section of block type HA group at 8 weeks ($\times 10$, H-E). Arrow head: defect margin.

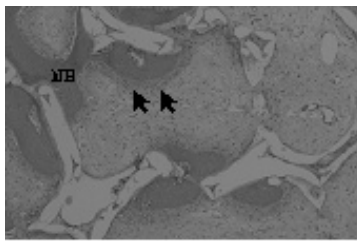


Figure 13. Higher magnification of block type HA group presenting new bone (NB) with osteoblastic steam (arrow). ($\times 100$, H-E).

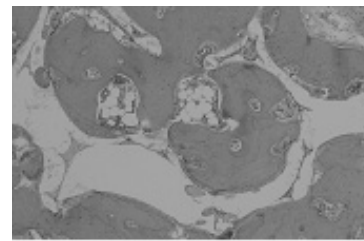


Figure 14. Higher magnification of block type HA group showing new bone with numerous blood vessel ($\times 100$, H-E).

Table 1. Histomorphometric Analysis of Defect closure (%) (Mean \pm Standard Deviation; n=8)

	4 weeks	8 weeks
Sham surgery control group	30.9 \pm 2.5 [†]	47.8 \pm 20.0 [†]
Bio-Oss group	90.0 \pm 11.5 [*]	100.0 \pm 0.0 [*]
Particulated HA group	42.2 \pm 8.6 ^{*†}	63.1 \pm 6.0 ^{*†}
Block type HA group	92.2 \pm 9.1 [*]	100.0 \pm 0.0 [*]

^{*} Statistically significant difference compared to sham surgery control group (p<0.05)

[†] Statistically significant difference compared to Bio-Oss group (p<0.05)

골밀도는 블록형 HA군, Bio-Oss군, 분말형 HA군, 대조군 순으로 높게 측정되었으며, 기간에 따른 차이는 통계학적 유의성이 없었다(Table 4).

고찰

골재생을 유도하기 위한 이식재는 조직 성장에 유리한 특성을 가져야 한다. 골세포의 부착과 성장 및 분화가 쉬워야 하고, 주위의 골과 결합하여 분리되지 않아야 하며 신생골 성장 속도에 따른 이식재의 분해가 일어나야 한다. 그러나 현재까지 이러한 골이식재는 없으며, 자연골과 유사한 이상적인 골이식재 개발을 위해 많은 연구가 진행 중이다.

합성골 중 Calcium phosphate는 예전부터 최근까지 새로운 제작법으로 발전되어 왔다. HA와 β -TCP 같은 calcium phosphate ceramics는 골을 구성하는 성분과 가장 유사한 조성을 가지고 있으며, 특히 HA는 Ca/P의 비율이 1.67로 골과 가장 유사하다²¹⁾. 이 비율이 낮아질수록 산도와 용해도가 증가하여 이식재의 흡수가 빨라지게 된다. 이식재의 흡수 기간을 적절하게 조절하기 위해 biphasic calcium phosphate ceramic(BCPC) 방법이 개발되어 HA와 β -TCP의 장점을 이용한 골전도성 효과가 입증되었다²²⁻²⁵⁾.

본 연구에서는 분말형 HA와 블록형 HA graft의 골형성 능력을 조직학적 접근으로 평가하고자 하였다. 본 연구에 사용된 분말형 HA graft는 평균 입径 4.5 μ m의 아주 작은 입자로 제작되었으며, 그것을 이용하여 86% 이상의 기공률

Table 2. Histomorphometric Analysis of Augmented area (mm²) (Mean±Standard Deviation; n=8)

	4 weeks	8 weeks
Sham surgery control group	3.9±0.7 [†]	4.1±0.4 [†]
Bio-Oss group	9.8±2.0 [*]	9.9±2.3 [*]
Particulated HA group	7.4±0.9 [*]	6.1±1.0 [*]
Block type HA group	14.2±1.9 ^{*†}	12.8±0.4 ^{*†}

* Statistically significant difference compared to sham surgery control group (p<0.05)

† Statistically significant difference compared to Bio-Oss group (p<0.05)

Table 3. Histomorphometric Analysis of New bone area (mm²) (Mean±Standard Deviation; n=8)

	4 weeks	8 weeks
Sham surgery control group	0.8±0.3 [†]	1.0±0.3 [†]
Bio-Oss group	2.0±0.4 [*]	3.2±1.8 [*]
Particulated HA group	1.5±0.3 ^{*†}	1.8±0.4 ^{*†}
Block type HA group	4.2±1.6 ^{*†}	4.9±0.7 ^{*†}

* Statistically significant difference compared to sham surgery control group (p<0.05)

† Statistically significant difference compared to Bio-Oss group (p<0.05)

Table 4. Histomorphometric Analysis of Bone density (%) (Mean±Standard Deviation; n=8)

	4 weeks	8 weeks
Sham surgery control group	17.7±3.4 [†]	20.1±6.5 [†]
Bio-Oss group	20.8±7.2 [*]	26.6±10.7 [*]
Particulated HA group	19.9±2.1	25.7±8.7 [*]
Block type HA group	25.7±11.0 ^{*†}	31.3±4.5 ^{*†}

* Statistically significant difference compared to sham surgery control group (p<0.05)

† Statistically significant difference compared to Bio-Oss group (p<0.05)

을 갖는 블록형 HA를 제작하여 사용하였다. 분말형 HA는 입자가 작아 수화 속도가 빠르고 혈액에 빠르게 흡착되는 경향이 있으나, 조작성이 떨어지고 공간 유지 능력이 부족하였다. 본 연구 결과 분말형 HA 군은 조직 증대 면적이나 신생골 형성 면적이 다른 이식군보다 2배 이상 작았다. 이는 많은 이식재가 흡수되거나 탈락하여 골 결손부에서 4주, 8주 동안 유지되지 못한 것으로 보인다. 블록형 HA는 조직 증대 면적이나 신생골 형성 면적이 가장 컸으며, 신생골 사이로 많은 신생 혈관이 관찰되었다.

다공성 재료는 골 조직이 새로 성장하여 들어오는 것을 유도하고 적당한 크기로 서로 연결되어 있을 경우 신생 혈관과 골형성 유도 물질의 공급이 촉진될 수 있다. 이러한 이유로 기공의 크기와 형태는 신생골 형성 유도에 영향을 미치게 되는데 골전도성 물질의 적당한 기공 크기는 100~400 μ m으로 알려져 있다²⁴⁾. Gauthier 등²⁵⁾은 골이 이식재 입자 내로 유입되기 위해서는 기공률보다는 기공의 직경이 더 중요하며, 균일한 많은 골의 유입을 위해서는 기공의 직경이 565 μ m, 40%의 기공률을 가지는 것이 바람직하다고 하였다. 또, Tsuruga 등²⁶⁾은 다양한 크기의 기공을 가지는 HA를 이용한 연구에서 300~400 μ m의 크기의 기공을 가질 때, 신생골의 형성이 가장 많았다고 보고하였다²⁶⁾. 그러나, 기공률이 증가하면 이식재의 기계적인 강도는 감소하게 된다. 본 연구에 사용된 블록형 HA graft의 경우 86% 이상의 기공률을 가지며, 100~400 μ m 이상의 기공 크기를 가지고 있어 수술 중 즉석에서 크기 수정이 가능할 정도였으며, 결손부의 크기에 맞게 다듬어서 사용하였다.

본 연구에서 형성된 골결손부는 토끼에서 재골화(reossification)를 평가하는 임계 결손 크기로 알려진 10 mm 보다는 약간 작은 크기이나 이식재의 골유도 효과를 증명하기에는 유용한 결손부 모델로 제시되었다³⁰⁻³¹⁾.

본 연구의 조직학적 소견에서 결손부 내로 아무것도 넣지 않은 군과 분말형 HA를 이식한 군에서는 결손부 중앙부로 얇은 결체조직이 채워져 있었다. HA 분말은 augmentation 재료로서 공간 유지능력이 없어 결손부 내에서 상당량이 탈락하거나 흡수되었다. Bio-Oss 입자는 결손부 내에서 잘 유지되고 있었으며, 이식재 입자 주위로 신생골이 이식재를 둘러싸며 형성되는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 8주가 지난 후에도 결손부 내에서 이식재 입자가 많은 부분을 차지하고 있었다. Bio-Oss의 느린 흡수 기간은 여러 임상 연구에서 발표된 바 있으며, 이로 인해 신생골 형성이 오히려

방해된다고 보고한 연구도 있다²⁷⁻²⁹⁾. 본 연구에서도 8주까지 Bio-Oss 입자 주위에 제한된 양의 신생골 형성이 관찰되었다.

블록형 HA를 이식한 군은 4주째부터 기존골과 인접한 부위에서 뿐만 아니라 이식재 내부에서도 상당량 신생골이 관찰되었다. 이식재 내부의 골형성은 뇌경막과 인접한 부위에서 시작되었으며 기공 부위로 많은 신생 혈관이 유입되었다. 3차원적으로 연결된 다공성 구조는 골형성 유도 물질의 유입과 신생 혈관 형성을 촉진했을 것으로 사료된다. 8주 후에는 기공과 인접한 신생골 형성량이 확연히 증가하였으며, 기공의 크기가 다소 줄어들면서 신생골로 채워졌다. 블록형 HA graft 내부는 Bio-Oss 입자보다 흡수가 빨라 신생골 대체 비율이 더 높았다.

최근 백서 두개골 내에서 새롭게 제작된 생분해성 비정질 calcium phosphate 골이식재의 골전도 효과 분석에서 8주 후 신생골 면적이 5.4±6.2 mm, bone density가 40.4±1.6%로 보고되었다²⁰⁾. 이 값은 본 연구에서 분말형 HA군 신생골 면적(3.2±1.8 mm)과 블록형 HA의 면적(4.9±0.7 mm) 보다 크지만, 이 연구에서의 신생골은 광화된 골과 잔존 골 이식재, 섬유성 결합조직, 신생혈관 등을 포함한 골경계까지의 면적을 모두 합한 것으로 재료에 따른 차이라고 보기 어렵다. HA/ β -TCP의 골재생 유도 효과도 보고한 연구에서도 본 연구의 결과와 비슷한 조직학적 결과를 보고하였다²²⁻²³⁾. 조직 계층학적 분석 결과 블록형 HA 이식재는 4주, 8주 치유 기간에서 모두 분말형 HA군이나 Bio-Oss군보다 유의하게 많은 조직 증대량과 신생골 형성을 보였다. 이는 결손부 형태와 거의 동일한 블록형 HA를 이식한 것과, 입자형 보다는 블록형 HA가 이식재 내부의 구조적 안정성이 더 컸기 때문으로 사료된다.

골 결손부에서 블록형 HA의 효용성을 증명하기 위해 다양한 형태의 골결손부에 적용한 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 토끼의 두개골에 형성한 골 결손부에서 분말형 HA, 블록형 HA의 골형성 능력을 조직학적으로 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 4.5 μ m의 입경을 가지는 HA particulate graft와 86% 이상의 기공률, 100~400 μ m 이상의 기공 크기를 갖는 HA block graft는 토끼의 두개 결손부에 이식 후 4주, 8주 후 염증 소견 없이 치유되었다.
2. 분말형 HA, 블록형 HA군에서 4주, 8주 후 모두 대조

군보다 신생골 형성량이 많았으며, 특히 블록형 HA는 Bio-Oss보다도 신생골 형성량이 많았고 그 차이는 통계적으로 유의하였다.

3. 현 연구에 사용된 블록형 HA는 4주, 8주째에 Bio-Oss보다 빠르게 흡수되어 상당량 신생골로 대체되었다.

따라서 토끼의 골결손부에서 블록형 HA는 Bio-Oss보다 더 효과적인 골전도 물질로 작용하였으며, 4.5 μ m 입경의 분말형 HA는 상당량 흡수되거나 결합조직으로 치유되었다. 앞으로 치주 재생 치료 영역에서 블록형 HA와 분말형 HA의 골재생 효과를 평가하기 위해 더 많은 표본 수에서 장기간의 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Hiatt WH, Schallhorn RG. Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. *J Periodontol* 1973;44:194-208.
2. Mellonig JT. Periodontal bone graft technique. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1990;10:288-299.
3. Hoexter DL. Bone regeneration graft materials. *J Oral Implantol* 2002;28:290-294.
4. Pinholt EM, Solheim E, Bang G, Sudmann E. Bone induction by composites of bioresorbable carriers and demineralized bone in rats: a comparative study of fibrin-collagen paste, fibrin sealant, and polyorthoester with gentamicin. *J Oral Maxillofac Surg* 1992;50:1300-1304.
5. Schwartz Z, Somer A, Mellonig JT, Carnes DL Jr, Dean DD, Cochran DL, Boyan BD. Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation is dependent on age but not gender. *J Periodontol* 1998;69:470-478.
6. Somerman MJ. Is there a role for DFDBA in periodontal regenerative therapy? *J Periodontol* 1996;67:946-948.
7. Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. *Clin Oral Implants Res* 2000;11:217-229.
8. Pinholt EM, Bang G, Haanaes HR. Alveolar ridge augmentation in rats by Bio-Oss. *Scand J Dent Res* 1991;99:154-161.
9. Haas R, Mailath G, Dortbudak O, Watzek G. Bovine hydroxyapatite for maxillary sinus augmentation: Analysis of interfacial bond strength of dental implants using pull-out tests. *Clin Oral Implants Res* 1998;9:117-122.
10. Artzi Z, Nemcovsky CE, Dayan D. Bovine-HA spongiosa blocks and immediate implant placement in sinus augmentation procedures. Histopathological and histomorphometric observations on different histological stainings in 10 consecutive patients. *Clin Oral Implants Res* 2002;13:420-427.
11. Carmagnola D, Berglundh T, Lindhe J. The effect of a fibrin glue on the integration of Bio-Oss with bone tissue. A experimental study in Labrador dogs. *J Clin Periodontol* 2002;29:377-383.
12. Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:227-265.
13. Carranza FA Jr, Kennedy EB, Lekovic V, Taltmante E, Valencia J, Dimitrijevic B. Histologic study of the healing of human periodontal defect after placement of porous hydroxyapatite implants. *J Periodontol* 1987;58:682-688.
14. Stahl SS, Froum SJ. Histologic evaluation of human intraosseous healing response to the placement of tricalcium phosphate ceramic implant. *J Periodontol* 1986;57:211-217.
15. de Bruijn JD, van Blitterswijk CA, Davies JE. Initial bone matrix formation at the hydroxyapatite interface in vivo. *J Biomed Mater Res* 1995;29:89-99.
16. Cerroni L, Filocamo R, Fabbri M, Piconi C, Caropresso S, Condo SG. Growth of osteoblast like cells on porous hydroxyapatite ceramics: an in vitro study. *Biomol Eng* 2002;19:119-124.
17. Ducheyne P, Qiu Q. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials* 1999;20:2287-2303.
18. Moskow BS, Bubarr A. Histological assessment of human periodontal defects after durapatite ceramic implants. *J Periodontol* 1983;54:455-462.
19. Yukna RA, Harrison BG, Caudill RF. Evaluation of durapatite ceramic as an alloplastic implant in periodontal osseous defects. Twelve month reentry results. *J Periodontol* 1985;56:540-547.
20. Jung-Yoo Choi, Gyung-Joon Chae, Chang-Sung Kim et al. The effects of novel biodegradable amorphous calcium phosphate on bone regeneration in rat calvarial defects, *J*

- Korean Acad Periodontol 2007;37:871-879.
21. Monroe EA, Votava W, Bass DB. New calcium phosphate ceramic material for bone and tooth implants. *J Dent Res* 1971;50:860-861.
 22. Yoo-Jung Um, Ji-Yeon Hong, Sung-Tae Kim et al. Bone formation of newly developed biphasic calcium phosphate in rabbit calvarial defect model: pilot study. *J Korean Acad Periodontol* 2008;38:163-170.
 23. Kwang-Ho Lee, Hyun-Seon Jang, Joo-Cheol Park et al. Bone formation effects of HA/ β -TCP composite powder in rabbit calvarial bone defects: Histologic study. *J Korean Acad Periodontol* 2006;36:1-14.
 24. Fabbi M, Celotti GC, Ravaglioli A. Hydroxyapatite-based porous aggregates -physicochemical nature, structure, texture and architecture. *Biomaterials* 1995;16:225-228.
 25. Gauthier O, Bouler JM, Aguado E, Pilet P, Daculsi G. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials* 1998;19:133-139.
 26. Tsuruga E, Takita H, Itoh H, Wakisaka Y, Kuboki Y. Pore size of porous hydroxyapatite as the cell substratum controls BMP-induced osteogenesis. *J Biochem* 1997;121:317-324.
 27. Scarano A, Pecora G, Piattelli M. Osseointegration in a sinus augmented with bovine porous bone mineral: histological results in an implant retrieved 4 years after insertion. A case report. *J Periodontol* 2004;75:1161-1166.
 28. Zaffe D, Leghissa GC, Pradelli J, Botticelli AR. Histological study on sinus lift grafting by Fisiograft and Bio-Oss. *J Mater Sci Mater Med* 2005;16:789-793.
 29. Yildirim M, Spiekermann H, Handt A, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histological and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001; 16:23-33.
 30. Lundgren D, Nyman S, Mathisen T, et al. Guided bone regeneration of cranial defects, using biodegradable barriers: an experimental pilot study in the rabbit. *J Craniomaxillofacial Surg* 1992;20:257-260.
 31. Cavalcanti SC, Pereira CL, Mazzonetto R, de Moraes M, Moreira RW. Histological and histomorphometric analyses of calcium phosphate cement in rabbit calvaria. *J Craniomaxillofac Surg*. 2008;36:354-359.