

임프란트 식립시 이식된 탈회골기질을 함유한 이식재의 골형성에 대한 연구

김여갑 · 윤병욱 · 류동목 · 이백수 · 오정환 · 권용대

경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2005;31:481-491)

A STUDY ON THE BONE FORMATION OF GRAFT MATERIAL CONTAINING DEMINERALIZED BONE MATRIX WITH A SIMULTANEOUS INSTALLATION OF IMPLANT

Yeo-Gab Kim, Byung-Wook Yoon, Dong-Mok Ryu, Baek-Soo Lee,
Jung-Hwan Oh, Yong-Dae Kwon
Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dental College, Kyung-Hee University

Purpose: The aim of the present study is to evaluate the effect of autogenous bone and allograft material covered with a bioresorbable membrane on bone regeneration after a simultaneous installation of implant.

Materials and methods: Twelve healthy rabbits, weighing about 3~4 kg, were used in this experiment. Following impalnt(with 3.25 mm diameter and 8 mm length) site preparation by surgical protocol of Oraltrionics®, artificial bony defect, 5mm sized in height and depth, was created on femoral condyle using trephine drill(with 5 mm diameter and 5 mm length). Then implant was inserted. In the experimental group A, the bony defect was filled with autogenous particulated bone and coverd with Lyoplast® resorbable membrane. In the experimental group B, the bony defect was filled with allograft material(Orthoblast II®) containing demineralized bone matrix and covered with Lyoplast®. In the control group, without any graft materials, the bony defect was covered with Lyoplast®. The experimental group A and B were divided into each 9 cases and control group into 3 cases. The experimental animals were sacrificed at 3, 6 and 8 weeks after surgery and block specimens were obtained. With histologic and histomorphometric analysis, we observed the histologic changes of the cells and bone formation after H-E staining and then, measured BIC and bone density with KAPPA Image Base® system.

Results: As a result of this experiment, bone formation and active remodeling process were examined in all experimental groups and the control. But, the ability of bone formation of the experimental group A was somewhat better than any other groups. Especially bone to-implant contact fraction ranged from 12.7% to 43.45% in the autogenous bone group and from 9.02% to 29.83% in DBM group, at 3 and 8 weeks. But, bone density ranged from 15.67% to 23.17% in the autogenous bone group and from 25.95% to 46.06% in DBM group at 3 and 6 weeks, respectively. Although the bone density of DBM group was better than that of autogenous bone group at 3 and 6weeks, the latter was better than the former at 8 weeks, 54.3% and 45.1%, respectively. Therefore these results showed that DBM enhanced the density of newly formed bone at least initially.

Key words: Autogenous Particulated Bone, Demineralized Bone Matrix, Bone to Implant Contact, Bone Density

I. 서 론

치아 결손부 수복에 임프란트가 보편적으로 쓰이게 되면서 잔존 골량에 의해 많은 한계가 있으며 이에 대처하기 위한 골 결손부 증강에 많은 노력을 기울이고 있다. 치아 결손 후 치조

골은 주로 수직 고경과 협측골의 감소로 인해 초기 2년 내에 약 30% 정도의 흡수를 보이는데, 이는 주로 구강악안면 영역의 외상이나 심한 치주질환, 외상성 발거로 인한 협측골의 파절 등에 기인한다¹⁾. 이렇게 위축된 부위에 임프란트 식립시 위치나 방향에 영향을 주게 되어 심미적으로나 기능적으로 불량한 보철물을 만들게 되고 결과적으로 예후를 불량하게 만든다.

위축된 치조골 증강을 위하여 사용되는 골이식재의 종류는 자가골, 동종골, 이종골, 합성골 등이 있으며, 이러한 골이식재들은 즉시 사용이 가능하고 면역반응을 일으키지 말아야 하며, 빠른 골생성 및 재혈관화를 촉진하여 골의 지지와 연속성을 유지하는 등 기본적인 조건을 만족시킬 수 있어야 한다²⁾. 골 조직 형성시 골유착능(osteointegration), 골전도능(osteoconduc-

윤 병 욱

130-701 서울특별시 동대문구 회기동 1번지
경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Byung-Wook Yoon

Dept. of OMFS, Dental College, Kyung-Hee University
Hoegidong 1, Dongdaemunku, Seoul, 130-701, Korea
Tel: 82-2-958-9440 Fax: 82-2-966-4572
E-mail: yyy12@hanafos.com

tion), 골유도능(osteoinduction) 및 골형성능(osteogenesis) 등이 요구되는데 자가골은 네 가지 성질을 모두 갖고 있어 골형성이 가장 우수한 것으로 알려져 있다. 자가골은 생활력 있는 골형성 세포를 가지고 있고 조직학적 접합성이 뛰어나며 감염의 위험성이 적는데³⁾, 최근 Springer 등⁴⁾은 여러 형태의 자가골을 채취하여 생활력 있는 골세포를 배양하는 실험으로 파쇄된 골편의 입자 크기가 클수록, 치밀골보다는 해면골의 골형성능이 우수하다고 하였다. 또한, 드릴로 채취한 골보다는 블록골을 파쇄한 골에 생활력 있는 골세포의 수가 월등히 많다고 했다. Chen 등⁵⁾은 자가골 이식이 해면골이나 치밀골에 상관없이 골 이식재 중 가장 우수하다고 하였고, Shirota 등⁶⁾은 하악골 중앙 적출 후 시행한 장골 이식 환자의 생검을 통한 연구에서 파쇄형 자가골이 블록형 자가골보다는 골형성 능력이 우수하여 골 재생에 필요한 기간이 짧다고 했다. 한편, Becker⁷⁾는 자가 입자골, 동결건조탈회골 혹은 이종골 등이 생물학적 안정성이 있어 그것들을 이용하여 치조골을 증강시킬 수는 있지만 골유착에 기여한다고 입증할 만한 증거는 거의 없다고 했다.

동종골 이식재 중 탈회골기질(demineralized bone matrix, DBM)은 골형성을 유도할 수 있는 어떤 신호를 가지고 있는데, 1982년 Urist 등⁸⁾은 골내에 있는 유기 성분 중 골형성에 관여하는 단백질이 함유되어 있는 것을 발견하고 이를 골형성단백(bone morphogenic protein, BMP)이라 명명하였다. 최근까지 약 25여종의 골형성단백이 발견되었는데, 이것은 미네랄로 둘러 싸여 있어 염산으로 탈회시켜서 분리할 수 있다. Reddi와 Cunningham⁹⁾은 미분화간엽세포가 화학주성에 의해 골기질 입자 표면으로 이주하고 분열하여 먼저 조골세포로 분화한 후 조골세포로 분화한다고 했다. 이 조골세포는 골형성단백과 TGF- β 를 유리하는데 TGF- β 는 골형성단백을 억제하고 증식, 혈관화, 기질 형성, 미네랄화 등 일련의 골형성 과정을 자극한다. 또한 골기질내에 소량 존재하는 저분자량의 내산성을 갖는 단백질이 골형성을 기시하는 역할을 한다는 사실도 밝혔다. Mahmoud 등¹⁰⁾은 원숭이의 대흉근에 탈회골 분말을 이식한 실험을 통해, 20일에 연골성분이 처음 나타났고, 40일에는 일부에서 골형성과 연골세포가 관찰되었으며, 72일에 전체 시편에서 골성분이 발견되었는데, 연골이나 골은 탈회골 분말의 변연부 뿐만 아니라 내부에서도 관찰되었다고 보고했다. Becker 등¹¹⁾은 탈회골기질의 재석회화가 20~30 μ m의 원형의 석회화 과립이 분산되어 나타나고 그 수가 늘어나면서 서로 뭉쳐져 신생 교직골과 구별이 어려운 단계로 이행되는 무세포성 석회화 침착 과정에 의한 것이라고 하였다.

1960년대에 골형성단백이 탈회골에서 발견된 이래 수많은 제조사가 임상 적용할 수 있는 제품을 공급해 왔다. 그러나 탈회골기질에 포함된 골형성단백이 골형성되는 기간동안 지속적으로 유지되지 못하는 단점이 있었는데, 지난 10여년 전부터는 탈회골기질을 매개체에 담아 그 실용성이 증가하게 되었으며 어떤 것들은 온도 변화에 따라 점성이 달라져서 이식부위에서의 적용이 용이하게 되었다.^{12,13)} 겔 형태의 매개체는 체

온에 의해 고형화가 되어 이식 후에도 주변으로 흘러지지 않고 그 형태를 유지할 수 있는데, 최근에는 퍼티(putty) 형태로 개발되어 이식부위의 고정이 훨씬 더 우수하게 되었다.

이에 본 연구는 자가골과 마찬가지로 골유도능과 골전도능을 가지는 이식재로서 인간의 뼈에서 얻은 탈회골기질을 함유한 이식재와, 실험동물에서 골결손부를 임의로 형성하면서 얻은 입자형 자가골의 초기 골형성능을 조직계측학적으로 분석, 연구하여 향후 임상 적용에 있어 실험적 근거를 마련하고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

1) 실험 동물

실험 동물은 동일한 조건에서 사육된 체중 3~4 kg 내외의 백색 가토 12마리를 암수의 구별없이 사용하였다. 실험 부위는 가토에서 해면골이 다소 풍부하게 존재하는 대퇴골의 원심과 두부를 선택하였다.

2) 실험 재료

실험 재료로는 21개의 직경 3.25 mm, 길이 8 mm PITT-EASY[®] BIO-OSS with FBR[®] (Oraltronic[®], Germany) 임프란트를 사용하였고, 이식재로 19.5%의 탈회골기질(demineralized bone matrix, DBM)과 12.5%의 해면골(cancellous bone chip)을 함유한 Orthoblast II[®] (Isotis Orthobiologics[®], USA)를 사용하였다. 또한 골결손부를 형성하기 위한 직경 5 mm trephine bur와 흡수성 차폐막으로 Lyoplast[®] (B BRAUN[®], USA)를 사용하였다.

2. 연구방법

1) 동물실험

실험동물을 Ketamin(Ketalar[®], 유한양행, 한국)과 Xylazine (Rompun[®], 바이엘코리아, 한국)을 1:1로 혼합하여 0.25 mg/kg의 용량으로 근육주사하여 전신마취를 유도하였다. 마취된 가토를 양와위로 수술대에 고정시킨 후 양측 대퇴골 원심과두부와 경골의 근심과두부를 제모하고 통상의 방법으로 베타딘 소독을 시행하였다. 피부 절개부에는 지혈을 위해 1:100,000에 피네프린을 함유한 2% 리도카인을 피하주사하였다. 이후 슬관절 측면에 절개 및 층별 박리를 시행하여 양측 대퇴골 원심과두부와 경골의 근심과두부를 노출시켰다. 임프란트 식립 위치는 대퇴골 원심과두부의 외측연에서부터 5 mm 정도 떨어진 부위로 하였으며 제조사의 지시에 따라 순차적으로 직경 3.25 mm, 길이 8 mm의 PITT-EASY[®] BIO-OSS with FBR[®] 임프란트 식립을 위한 골삭제를 시행하였다. 그 외측으로 직경 5 mm trephine bur를 이용하여 깊이 5 mm의 골결손을 형성하였다. 이때 얻어진 골편은 자가골 이식군에 사용하기 위해 보관해 두

었다. 준비된 임프란트를 식립하고 나사선이 3개 정도 노출되는 것과 초기 고정이 양호한 지를 확인하였다.

대조군은 골결손부에 흡수성 차폐막만을 적용하였고, 실험군 A는 채취된 자가골을 분쇄하여 이식한 후 흡수성 차폐막을 적용하고, 실험군 B는 Orthoblast II®를 골결손부에 이식한 후 차폐막으로 덮었다. 실험군 A와 B는 한 개체 당 양쪽으로 총 9마리에 대하여 시행하였으며, 대조군은 편측으로 총 3마리에 대하여 실험을 하였다. 모든 군 공히 골막 및 근육을 3-0 vicryl로 봉합하고, 피부는 3-0 black silk로 층별봉합을 시행하였다. 술 후 감염을 예방하기 위하여 Gentamicin을 20mg/kg의 용량으로 7일간 근주하였다(Fig. 1-2).

2) 실험동물의 희생

골이식 후 3주, 6주 및 8주째에 실험군 각 3마리와 대조군 한 마리를 Ketamin(Ketalar®, 유한양행, 한국)과 Xylazine(Rompun®, 바이엘코리아, 한국)을 1:1로 혼합한 후 심장에 소량을 주입하여 희생시켰다. 실험한 부위를 노출시킨 다음, fissure bur를 이용하여 이식부를 포함한 골괴를 적출하였다.

3) 육안적 검사

실험 부위를 노출시켜 임프란트의 식립 상태와 고정 여부, 염증과 이식골의 흡수 정도, 골치유 상태를 육안으로 확인하고, 치과용 탐침을 이용하여 재생골의 표면을 검사하였다.

4) 조직절편 제작

적출한 시편을 즉시 10% 포르말린에 보관하였다. 고정된 조직을 관찰하고자 하는 골이식부와 임프란트를 중심으로 하여 MBS 220/E PROXXON®을 이용하여 육안 조직 검사(gross section)를 하였다. 이 조직을 카세트에 넣고 24시간 정도 수세하고 70%~100% 알코올로 각각 6시간씩 진동상태를 유지하도록 한 다음, 100% 알코올에 24시간 동안 진동 및 진공 상태를 유지하며 탈수시켰다. 탈수가 끝난 후 Technovit 7200 VLC®와 100% alcohol 1:1용액에 24시간 동안 진공 및 진동상태가 되도록 유지하고 이어 3:1 용액에 24시간, Technovit 7200 VLC® 용액에 24시간 동안 순차적으로 보관하였다. 마지막으로 Technovit 7200 VLC®용액과 benzoyl peroxide을 혼합한 용액으로 포매하였다.

포매한 절편을 오븐에서 24시간 동안 건조시키고 건조된 절편을 다듬은 다음 슬라이드에 Technovit 7200®으로 부착시키고 건조하였다. 이것을 paper 1200®로 다듬고 이 절편을 Technovit 7210®으로 슬라이드에 부착시킨 후 자외선으로 건조시켰다. 건조된 절편을 경조직 절삭기인 EXAKT cutting grinding system® (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Germany)로 절삭하여 다시 paper 1200®으로 다듬어 슬라이드와 절편을 합한 두께가 70~75 µm 정도가 되도록 하였다.

통상의 방법으로 H-E 염색을 하고 90% Glycerol로 마운팅한 후 광학현미경으로 12.5배, 40배, 400배로 검경하였다.

5) 조직형태측정학적 관찰

제작된 조직 절편을 KAPPA Image Base® (Metro 2.5)를 이용하여 12.5배, 40배, 400배 상을 촬영하였다. 그 중 40배 상에서 골이식이 시행되었던 임프란트 상부의 나사선 3개에 대하여 골접촉률과 골밀도를 측정하고 그 평균값을 기록하였다. 골접촉률은 골결손부에서 임프란트와 직접 접촉한 신생골의 길이와 임프란트 표면의 길이의 비를 백분율로 표시하였다. 골밀도는 나사선 사이에 생긴 신생골 및 골양조직의 면적과 나사선 사이의 전체 면적과의 비를 백분율로 표시하였다. 대조군, 실험군 A와 B에 대하여 각각을 계측한 후 비교 분석하여 골양조직과 신생골의 형성량을 정량적으로 나타내었다(Fig. 3).

Ⅲ. 연구결과

1. 육안적 소견

대조군은 뚜렷한 염증 소견없이 원활한 치유상태를 보였고 골형성은 비교적 양호하였으나 차폐막이 골결손부 내부로 함몰되어 신생골 형성이 저하된 소견을 보였다. 실험군 A는 다른 군에 비해 초기 염증 소견을 보이는 개체가 많았으나 항생제 처치 후 감소하였고, 골형성은 대조군보다는 우수하였으나 이식부에 함몰 소견이 관찰되었다. 실험군 B는 가장 우수한 골형성을 보였고 함몰부도 가장 적게 관찰되었다. 실험에 사용한 차폐막은 3주군에선 일부 흡수된 소견이 관찰되었으나, 6, 8주군에선 거의 흡수되어 형태를 구분하기 어려웠다(Fig. 4).

2. 조직학적 소견

(1) 대조군

1) 3주군

골결손 부위는 혈관이 풍부한 소성결합조직으로 채워져 있고 결손부 주변의 골에서부터 새로운 골형성이 활발하며 신생골은 큰 골소와가 많이 관찰되었다. 임프란트 주변이나 결손부 내의 뚜렷한 염증 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 5).

2) 6주군

결손부 내부에 신생골이 차있으며 신생골은 다시 새로운 층판골이 형성되면서 뚜렷한 골개조의 소견을 보이고 있었다. 부분적으로 골흡수상이 보이나 골형성 소견이 더 뚜렷하고 조혈골수와 지방성 골수가 발달되어 있으며 염증 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 5).

3) 8주군

결손부는 대부분 해면골과 조혈 골수로 채워져 있으며 일부 골개조의 소견을 보이나 인접 해면골과 구분할 수 없었다. 임프란트 주변의 골형성은 기존골 경계부에서 더 뚜렷하게 관찰되었다.

(2) 실험군 A(자가골군)

1) 3주군

결손부위는 혈관이 풍부한 소성결합조직으로 채워져 있으며 이식한 자가골편이 흡수된 소견을 많이 보이고 그 주위로 일부 신생골 형성이 관찰되었다. 대부분의 골형성은 기존골 경계부에서 관찰되고 노출된 임플란트 표면엔 일부 골접촉되는 소견이 보이며 성근골로 구성되어 있었다(Fig. 6).

2) 6주군

대조군과 유사하나 결손부는 대부분 지방성 골수와 많은 적혈구를 함유한 조혈 골수로 채워져 있고 해면골 소주가 형성되어 있으며 골개조가 뚜렷이 진행되고 있었다. 임플란트 주변에는 신생골이 매우 적게 관찰되었고 이식한 자가골편과 인접한 신생골과의 경계가 뚜렷하지 않게 보였다(Fig. 7).

3) 8주군

결손부는 비교적 풍부한 골조직 형성이 보이고 골소주의 밀도가 좀 더 높고 크기도 크게 관찰되었다. 임플란트 표면 주위에 골밀도가 증가된 소견을 보이고 골접촉도 매우 양호하게 보였다.

(3) 실험군 B(DBM군)

1) 3주군

결손 부위에 있는 이식재는 다양한 염색상을 보이며 그 주변에는 뚜렷한 이물 반응과 흡수상을 보이고 많은 이물거대세포가 관찰되었다. 주변골에서의 골형성은 소성결합조직으로 차 있으며 신생골과 일부 이식재가 결합한 양상을 보였다. 임플란트 표면의 골접촉은 기존골 경계부에서만 일부 관찰되었다(Fig. 8).

2) 6주군

일부 이식재가 잔존하나 대부분은 흡수된 소견을 보였으며 산재되어 있는 양상을 보였다. 결손부는 섬유성 조직과 조혈 골수로 채워져 있으며 골소주내에 이식재의 일부가 관찰되었다. 골개조의 소견은 뚜렷하지 않고 골형성 소견이 우세하게 관찰되었다(Fig. 9).

3) 8주군

결손부는 대조군과 유사하며 골소주의 형태도 자가골 이식군과 큰 차이는 없었다. 일부 골소주 내부에 매식편이 잔존하나 특별한 골개조의 소견은 보이지 않았다. 결손부의 표층에 약간의 이식재가 잔존하고 염증도 주변에 관찰되었다(Fig. 10).

Table 1. Histomorphometric Measurement of The Distance(Bone to Implant Contact) and The Area(Bone Density) in The Defect

	3 weeks		6 weeks		8 weeks	
	distance %	area %	distance %	area %	distance %	area %
C	21.07	35.40	33.87	60.39	24.43	29.26
A	35.11	23.17	12.70	15.67	43.45	54.30
B	21.22	46.06	9.02	25.95	29.83	45.10

(C: control group, A: Exp. group A, B: Exp. group B)

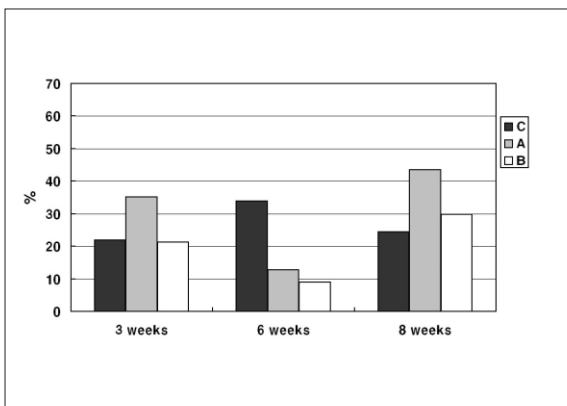


Fig. 11. Bone to implant contact.
(C:control, A:autogenous, B:DBM)

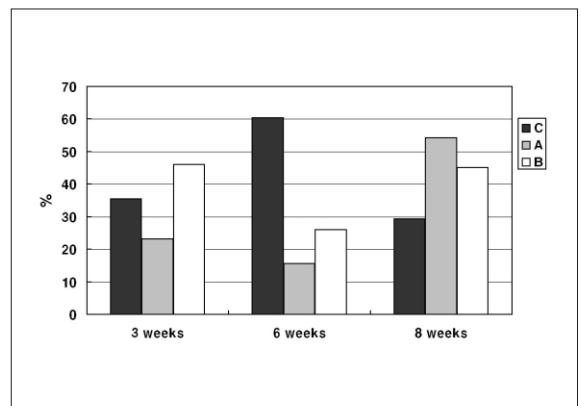


Fig. 12. Bone density.
(C:control, A:autogenous, B:DBM)

3. 조직형태계측학적 분석

골접촉률은 실험군 A가 3주, 6주, 8주에 각각 35.11%, 12.70%, 43.45%로 측정되었고, 이에 반해 실험군 B는 21.22%, 9.02%, 29.83%로 실험군 A가 임프란트와의 골접촉이 더 우수한 것으로 나왔다. 두 군의 경우는 특징적으로 6주군에서 낮은 값을 갖는 것을 알 수 있었다. 이와는 대조적으로 대조군의 경우는 6주군이 33.87%를 나타내어 3주군과 8주군보다는 큰 값을 보였다 (Fig. 11).

골밀도의 경우는 골접촉률과는 다소 다른 양상을 보였다. 실험군 A가 3주, 6주에 각각 23.17%와 15.67%로, 실험군 B의 46.06%와 25.95%보다는 낮은 값을 나타내었다. 그러나 8주에서는 54.30%와 45.10%로 실험군 A가 더 높게 측정되었다. 대조군은 골접촉률에서 측정되었던 것과 같이 6주군에서 60.39%로 3주군과 8주군보다 크게 나왔다 (Table 1, Fig. 12).

IV. 총괄 및 고찰

골결손부에 대한 골이식은 오래전부터 시행되어 왔으며 그 방법과 기술도 다양하게 이루어지고 성공률도 높은 편이다. 골이식에서 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 인해서 동종골, 이종골 또는 합성골을 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 조기에 이러한 목적을 달성하기 위해서 보다 빠르게 양질의 골을 재생시키려는 시도가 계속되고 있다.

자가골의 골재생 능력은 다른 이종골이나 인조골에 비해 탁월하여 골이식에서 첫 번째로 선택되는 재료이다. Matthias 등¹⁴⁾은 골합성의 조직학적 연구에서 피질골과 해면골 사이에 차이가 있다고 했는데 해면골은 블록형이나 파쇄형의 차이가 없이 골조직 치유가 유사하게 일어나고 피질골은 파쇄형 단독으로 사용하기 보다는 블록형으로 사용하는 것이 바람직하다고 주장했다. 이것은 신선한 자가해면골이 골형성 과정에 의해 먼저 치유되고 나중에 골흡수가 일어나는 반면에, 피질골 세포만 이식한 경우는 골흡수가 먼저 일어나서 치밀한 골에 공간을 만들게 되고 이어서 골형성 과정이 일어나기 때문이라고 했다. 그들은 또한 자가골과 이종골을 혼합하여 사용하는 것에 대한 실험을 했는데¹⁵⁾, 그 결과 해면골과 혼합한 것이 피질골과 혼합한 것보다는 골형성이 훨씬 우수하다고 보고했다. Araujo와 Sonohara 등¹⁶⁾은 블록형 자가골과 Bio-Oss 블록형 이식재의 흡수와 골형성을 비교한 연구에서, 술후 6개월 경에 자가

골은 반이상이 흡수되어 47%만 남았고 Bio-Oss의 경우는 외형적인 흡수는 거의 없었으며 이식재 내부에서 약 23%정도 신생골 형성이 이루어졌다고 보고했다.

1980년대 초 Karring 등¹⁷⁾에 의해 치주조직의 유도재생 가능성이 발표된 후, 이 논리를 근거로 해서 임프란트 주위에 차폐막을 이용한 골유도재생술이 1991년 Dahlin 등¹⁸⁾에 의해 본격적으로 임상 적용되면서 임프란트의 적용 범위가 넓어지는 계기가 되었다. 차폐막으로는 e-PtFE (expanded polytetrafluoroethylene)같은 비흡수성막과 폴리락타이드, 폴리글리콜라이드, 폴라겐 등과 같은 흡수성 차폐막이 있는데, 주변골로부터 신생골을 형성할 만큼 막이 분해되지 않고 유지되기 위한 3~9개월 정도의 임계유지기간이 필요하다¹⁹⁾. Miller 등²⁰⁾은 가토의 치주골결손부에 교원질과 폴리락트산 막을 사용하여 막의 흡수 시간을 측정된 비교 실험에서 교원질막은 실험 2주에서 완전히 흡수되어 막의 형태가 보이지 않았으나, 폴리락트산 막은 12주까지 막이 잔존하여 골재생에 좀 더 유리하다고 보고한 바 있다. 김수민 등²¹⁾은 백서의 두개부 결손부 골재생에 흡수성 차폐막인 BioMesh®(삼양사, 한국)와 탈회동결건조골을 복합 사용한 실험에서 실험 1주부터 흡수가 시작되었으며 실험 8주에서는 거의 흡수되어 형태를 구별할 수 없었고, 4주보다는 8주에서 좀 더 많은 신생골이 형성되는 것으로 보아 최소 4주 이상은 막이 유지되어야 한다고 보고했다. 또한 골이식재 단독 사용보다는 차폐막을 같이 이용하는 경우 신생골 형성을 증진시킬 수 있다고 보고했다.

본 연구는 Luiz 등¹⁾, Tae-Ju 등¹⁹⁾, Thomas 등²²⁾과 Botticelli 등²³⁾의 실험적 배경을 참고로 Trephine bur를 이용하여 변형시킨 골결손부를 형성하고 모든 군에 흡수성 차폐막인 콜라겐 막을 사용하였다. 자가골은 생활력있는 세포의 수가 많게 하기 위해 Springer 등⁴⁾의 결과에 따라 골결손부를 형성하면서 얻은 골편을 뜬저로 파쇄하여 사용하였고, 막은 소의 심낭막으로부터 얻은 효소, 지질, 비콜라겐성 단백질을 분리한 순수 콜라겐막인 Lyoplast® (B BRAUN®, USA)를 사용하였다. 이 막은 결체조직내 세포의 막내로의 이주를 이식 후 수일 내에 이루어지게 하며, 흡수되어 내인성의 결체조직으로 대체되는데 걸리는 시간이 1~3개월 정도이다. 실험 결과 3주군에선 이식재 종류에 상관없이 일부 막의 흡수 소견을 보였고 6, 8주군에선 완전히 흡수되어 형태를 구분하기가 어려웠다.

골개조는 기존에 있던 뼈에서 일어나는 교체를 의미하거나 골 내부의 재구조화라고 정의할 수 있는데 그 과정은 생물체종에 따라 매우 다양하게 나타난다. 예를 들면, 일차 가골의 형성은 사람과 토끼가 유사하나 골개조에 의존하는 성숙 과정은 사람이 토끼보다 약 3배 정도 더 걸린다. 임프란트 식립 후 토끼에서는 가골 형성이 2주, 층판골 침착이 6주, 골개조가 일어나는 시기가 약 6주이며, 성숙하기까지는 약 18주가 소요된다고 한다. 반면에 사람에서는 가골 형성이 6주, 층판골 침착이 18주, 골개조 시작이 18주, 골성숙까지는 54주의 시간이 필요하게 된다²⁴⁾. 이번 실험의 경우엔 모든 6주군에서 골개조 소견을 보이고 있으며, 특히 DBM군과 자가골군에서 활발히 진행

되고 있는 것으로 관찰되었다.

탈회골기질은 동종골의 일종으로 골성분 중 70%를 차지하는 미네랄을 염산 등으로 제거한 것으로 콜라겐, 골형성단백, 성장인자 등을 함유한 유기질이다. 실험에 사용한 Orthoblast II® (Isotis Orthobiologics®)는 2세대 탈회골기질로서 골유도능을 갖는 19.5%의 탈회골기질과 골전도능을 갖는 12.5%의 해면골로 구성되어 있으며 이들을 매개체에 담아서 물성을 향상시킨 것으로, 이식부에 적용하면 점성이 증가되어 다른 조직접착제 등을 사용할 필요가 없이 고정이 비교적 용이하다. 탈회골기질은 골형성이 이루어지는 기간동안 천천히 골형성단백을 유리하여 골형성능이 자가골과 마찬가지로 우수하지만 공여자의 나이와 성별, 입자의 크기, 탈회시키는 과정 등에 의해 골유도에 영향을 받는다고 알려져 있다²⁵⁾. 탈회골기질에 대한 조직학적 연구들을 살펴보면, Urist 등²⁶⁾은 쥐의 대흉근에 이식한 첫 주에 간엽세포의 이주와 증식을 유도하고, 둘째 주에 연골 및 연골양 조직으로 분화하고, 셋째 주에 BMP는 거의 완전히 흡수되고 연골양 세포가 조골세포로 분화되며 교직골이 형성되고, 넷째 주에는 교직골이 층판골로 개조된다고 했다. 또한, 강상규 등²⁶⁾은 골형성을 확인하기 위해 탈회동종골 분말을 개의 종아리 근육낭에 이식한 6주후 소견에서 파골세포에 의한 이식재의 흡수와 조골세포에 의한 신생 층판골의 형성을 탈회골 분말의 변연부와 내부에서 관찰할 수 있었다고 보고했다. John 등²⁷⁾은 원숭이의 척추골 융합술을 통해 골유도능이 있음을 입증했다.

탈회골기질에 대한 조직계측학적 연구를 시행한 Mardas 등²⁸⁾은 쥐의 하악지에 캡슐 모델을 이용한 실험에서 탈회골기질이 전체적인 신생골의 양을 증가시키지는 않지만 골밀도를 증가시킨다고 보고했다. 유사한 결과가 Stentz 등²⁹⁾에 의해서도 보고되었다. Liljesten 등³⁰⁾은 토끼의 경골에 골결손부를 형성하고 임플란트 식립후 자가골과 탈회골기질을 이식한 실험에서 6주군의 골점축률은 각각 21%와 6%, 골밀도는 75%와 46%로 자가골이 훨씬 우수하였지만 6개월군의 경우는 거의 유사하였고 보고하였다. 이번 실험의 경우, 3주 실험군 B와 실험군 A에서 골밀도가 각각 46.06%와 23.17%, 6주군에서는 각각 25.95%와 15.67%로 실험군 B가 높은 값을 나타내어 탈회골기질이 골밀도를 증가시킨다는 다른 학자들의 의견과 비슷한 양상을 보였다.

이식재의 골형성 정도를 비교한 이번 실험은 임플란트의 형태와 표면처리, 실험부위의 골질에 따라서도 골점축률과 골밀도가 다르게 나타날 것이다. 사용된 임플란트는 직경 3.25 mm, 길이 8 mm PITT-EASY® BIO-OSS with FBR® (Oraltronic®, Germany)인데, 기존의 TPS표면 위에 용해성 인산칼슘(soluble CaP:CaHPO₄·2H₂O, Brushite)을 이중 코팅한 미세 입자형 표면 구조를 갖으며 두께는 약 20 μm 이고 100%흡수가 일어난다고 한다. 또한, 고모세관현상(high capillary effect)으로 인해 식립된 후 혈장 피브린의 침착을 향상시켜서 초기 골형성을 증가시킨다. 골형성은 CaP 흡수와 동시에 일어나고 식립 6주경에는 표면에 골침착이 일어난다. Rolf Semmler가 발표한 연구에 의하면³¹⁾, 수

술 6주후의 골점축률을 관찰한 결과, 기존의 TPS 처리된 임플란트가 46.8%, FBR®이 73.0%로 약 23%정도 더 향상되어 상부 구조를 6주경에 연결할 수 있고, 골질이 좋지 않은 D₃, D₄에 효과적이라고 보고했다. 이번 실험의 모든 군에서 골유착의 실패로 탈락한 임플란트는 하나도 없었다. 비교적 초기 고정이 좋지 않았던 경우도 골유착은 매우 양호한 결과를 보였다. 또한 골결손부의 반대측의 골점축률을 계산한 결과, 3주군에선 59.28%, 6주군 30.63%, 8주군 55.68%로 계속되어 Rolf Semmler의 연구 결과에는 다소 미치지 못하는 것으로 나왔다.

실험군 A와 B를 비교하였을 때 비록 다소 적은 차이는 있지만 신생골은 골결손부에 인접한 주변골로부터 생성되기 시작한다. 이러한 골형성을 Davies³²⁾가 “distance osteogenesis or appositional bone growth”라고 하였고, 반면에 임플란트 표면에서부터 직접 일어나는 골형성은 “contact osteogenesis or osteoconduction”이라고 명명하였다. 특히 400배 광학현미경 소견을 보면, 모든 실험 3주군에서 많이 관찰되던 혈관이 풍부하고 많은 조골세포를 가진 소성 결합조직이 6주경에는 광화된 골조직으로 나타난다. Botticelli 등³³⁾은 동물 실험을 통해, 골결손부에 임플란트 식립 한달 후 임플란트 표면에 존재하던 치밀결합조직이 두달 경에는 광화된 골조직으로 변하게 된다고 하고 그것은 연조직의 개재가 아니라 광화중인 조직이라고 하였다.

대조군을 제외한 실험군은 3주군과 8주군에 비해 6주군에서 골점축률과 골밀도가 낮은 값을 보이는데, 이는 일반적인 골치유 기전과 유사한 것으로 판단된다. 실험군에서는 자가골편과 이식재 주위에 파골세포의 활동이 우세하여 이식재 및 주위골의 흡수가 일어나는 것과 같은 것으로 보이며, 4주경에 가장 낮은 값을 보일 것으로 추정된다. 반면에 대조군은 이식재를 사용하지 않은 상태로 차폐막 내부로 인접 주위골로부터의 지속적인 골생성 때문에 다른 군들과는 다르게 6주군에서도 골점축률과 골밀도가 높은 값을 나타내었다.

본 실험에서 자가골군과 DBM군 모두 비교적 골형성이 잘 이루어진 것으로 보인다. 특히, 골점축률은 자가골이 훨씬 우수한 소견을 보였고, 골밀도는 DBM군이 다소 높았지만 전체적인 골형성량은 크게 차이가 나지 않았다. 이 실험에 사용한 DBM은 동종골로 분류되어 생산되는 것으로 실험 동물과는 이종골로 볼 수 있어 보다 좋은 결과를 얻기 위해서는 실험 동물과 같은 종으로 DBM을 사전 제조하는 것이 바람직하다고 하겠다. 이 실험 결과에서 알 수 있듯이 실험 동물로 사용한 가토의 대퇴골은 골단부 일부를 제외하고는 해면골이 거의 없는 경우가 많아서 실제 임상에서 적용한다면 자가골 못지 않은 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

백색 가토를 실험동물로 이용하여 인위적으로 형성한 골결손부에 임플란트 식립과 동시에 대조군은 차폐막만을 적용하고, 실험군 A는 자가골과 차폐막을, 실험군 B는 DBM과 차폐막을 적용하여 골형성에 도움이 되는지를 확인하고 어떤 이식

재가 더 효과적인지를 밝히기 위하여 조직계측학적으로 분석함으로써 각각의 골형성능을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 조직학적으로는 자가골군이 지방골수와 조혈 골수가 풍부하게 보이고 골개조 소견도 더 활발히 진행되는 것으로 관찰되었다. 반면에 DBM군은 골형성 과정이 자가골군과 유사하지만 8주군에서도 이식재 일부가 잔존하는 소견을 보였다.
2. 임프란트 표면에서의 골접촉률은 자가골군이 DBM군보다 실험 기간에 상관없이 더 높게 계속되었다.
3. 임프란트 부착부의 골밀도는 DBM군이 실험 3, 6주에 더 우수한 것으로 계속되어 임프란트 주변의 골이 더 치밀하게 형성됨을 알 수 있다. 그러나, 8주경에는 골밀도 또한 자가골군이 더 우수하게 계속되었다.

이상의 결과들로 종합해 볼 때, 임프란트 식립과 동시에 이루어지는 골유도재생술에는 자가골을 사용하는 것이 가장 우수하였으며 예견 가능한 결과를 낳을 것으로 보인다. 또한, 실험에 사용한 탈회골기질도 자가골에는 다소 미치지 못하나 만족할 만한 결과를 보였다. 앞으로 자가골과 같은 골유도능과 골전도능을 갖는 이식재와 골형성단백이 이식 후 지속적으로 작용할 수 있는 매개체에 대한 연구가 활발히 이루어져서 임프란트와 동시 이식시 골접촉률이 향상된다면, 치료 기간을 보다 단축할 수 있을 뿐만 아니라 구강악안면외과 영역의 다양한 골결손부에 임상 적용하여 보다 양호한 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Luiz A, Anita M, Niklaus P, Christoph H, Edson L, Eduardo P, Jose H: Surface characteristics of implants influence their bone integration after simultaneous placement of implants and GBR membrane. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:669-679.
2. Boyne PJ: Induction for bone repair by various bone grafting materials, hard tissue growth, repair and remineralization. *Ciba Found Symp* 1973;11:121-129.
3. William RM, Stephen EG, Gergory IB: Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg* 2001;71:354-361.
4. Springer ING, Hendrik T, Stefan G, Franz H, Jurgen H, Yahya A: Particulated bone grafts - effectiveness of bone cell supply. *Clin Oral Impl Res* 2004;15:205-212.
5. Chen NT, Glowacki J, Bucky LP, Hong HZ, Kim WK, Yaremchuk MJ: The role of revascularization and resorption on endurance of craniofacial onlay grafts in rabbit. *Plast Reconstr Surg* 1994;93:714-724.
6. Shirota T, Ohno K, Motohashi M, Michi K: Histologic and microradiologic comparison of block and particulate cancellous bone and marrow grafts in reconstructed mandibles being considered for dental implant placement. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996;54:15-20.
7. Becker W: Treatment of small defects adjacent to oral implants with various biomaterials. *J Periodontol* 2003;33:26-35.
8. Urist MR, Leitze A, Mizutani H, Takagi K, Triffitt JT, Amstutz J, DeLange R, Termine J, Fineman GA: A bovine low molecular weight bone morphogenic protein (BMP) fraction. *Clin Orthop* 1982;162:219-232.
9. Reddi AH, Cunningham NS: Recent progress in bone induction with osteogenin and bone morphogenic proteins: challenges for biomechanical and tissue engineering. *J Biomech Eng* 1991;113:189-190.
10. Mahmoud H, Mahamoud S: Osteoinduction in rhesus monkeys using demineralized bone powder allografts. *Int J Oral Maxillofac Surg*

- 1985;43:837-844.
11. Becker W, Schenk R, Higuchi K, Lekholm U, Becker E: Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts. A study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1995;10:143-154.
12. Thordarson DB, Kuehn S: Use of demineralized bone matrix in ankle/hindfoot fusion. *Foot Ankle Int* 2003;24(7):557-560.
13. Cheung S, Westerheide K, Ziran B: Efficacy of contained metaphyseal and periarticular defects treated with two different demineralized bone matrix allografts. *Int Orthop* 2003;27:56-59.
14. Matthias AWM, Japp CM, Hans MF, Anne MKJ: Incorporation of particulated bone implants in the facial skeleton. *Biomaterials* 1999;20:2029-2035.
15. Matthias AWM, Jaap CM, Hans MF: Incorporation of composite bone implants in the facial skeleton. *Clin Oral Impl Res* 2000;11:422-429.
16. Araujo MG, Sonohara M, Hayaclbara R, Cardaropoll G, Lindhe J: Lateral ridge augmentation by the use of grafts comprised of autologous bone or a biomaterial. An experiment in the dog. *J Clin Periodontol* 2002;29:1122-1131.
17. Karring T, Nyman S, Lindhe J: Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J Clin Periodontol* 1980;7:96-105.
18. Dahlin C, Andersson L, Lindhe A: Bone augmentation at fenestrated implants by an osteopromotive membrane technique. A controlled clinical study. *Clin Oral Impl Res* 1991;2(4):159-165.
19. Tae-Ju O, Stephen JM, Eun-Ju L, William VG, Hom-Lay W: Comparative analysis of collagen membranes for the treatment of implant dehiscence defects. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:80-90.
20. Miller N, Penaud J, Foliguet B, Membre H, Ambrosini P, Plombas M: Resorption rates of 2 commercially available bioresorbable membranes. A histomorphometric study in a rabbit model. *J Clin Periodontol* 1996;23:1051-1059.
21. 김수민, 여환호, 김수관, 임성철: 백서에서 흡수성막과 탈회동결건조골을 이용한 두개골결손부의 골재생. *대구외지* 2002;28:290-301.
22. Thomas VA, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Buser D: Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in canine mandible. *Clin Oral Impl Res* 2001;12:260-269.
23. Botticelli D, Berglund T, Buser D, Lindhe J: Appositional bone formation in marginal defects at implants. An experimental study in the dog. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:1-9.
24. Misch CE: *Contemporary Implant Dentistry* 2nd edition. Mosby: 1999:228-237.
25. Kathy T, James LR, Jean TE, Harrison AS, Heene RS, David K: Donor age and gender effects on osteoinductivity of demineralized bone matrix. *J Biomed Mater Res Part B* 2004;70B:21-29.
26. 강상규, 이종호, 김명진: 임프란트 매식시 골형성단백질 및 탈회동결건조골 사용에 따른 골재생 및 계면에 대한 연구. *대구외지* 2000;26:24-39.
27. John LU, Hideki M, Hak-Sun K, Akihito M, Scott DB: Evidence of osteoinduction by Grafton demineralized bone matrix in nonhuman primate spinal fusion. *Spine* 2004;29:360-366.
28. Mardas N, Kostopoulos L, Stavropoulos L, Karring T: Osteogenesis by guided tissue regeneration and demineralized bone matrix. *J Clin Periodontol* 2003;30:176-183.
29. Stentz WC, Mealey BL, Gunsolley JC, Waldrop TC: Effect of guided bone regeneration around commercially pure titanium and hydroxyapatite-coated dental implants. II histologic analysis. *J periodontol* 1997;68:933-949.
30. Liljensten E, Larsson C, Thomsen P, Blomqvist G, Hirsch JM, Wedenberg C: Studies of the healing of bone grafts and the incorporation of titanium implants in grafted bone: an experimental animal model. *J Mater Sci Mater Med* 1998;9:535-541.
31. Rolf S: Double coating accelerated bone regeneration. Clinical aspects of FBR® double-coated Pitt-Easy® Bio-Oss implants (Oraltronic®). *DGZI* 5 issue 2001;3:22-30.
32. Davies JE: Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont* II 1998:391-401.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1. Picture shows the insertion of fixture.
- Fig. 2. Picture shows graft of Orthoblast II®.
- Fig. 3. Histomorphometric measurement presents the distance and the area in percentage. We measure them in the $\times 40$ image and can see the BIC(bone to implant contact) and bone density through this method.
- Fig. 4. This picture shows block specimen of femoral condyle after sacrifice. (8 weeks-groups)
In the Exp. group B, it is observed that graft material on bony defect area has the lowest degree of resorption.
A) Control group; B) Exp. group A(autologous); C) Exp. group B(DBM)
- Fig. 5. Histologic views of control group in original magnification $\times 400$. (H-E stain)
Left, blood vessel-rich loose connective tissue and osteocytic lacunae are observed at 3 weeks.
Right, high activity of remodeling process is shown with newly formed lamella bone at 6 weeks.
- Fig. 6. Histologic views of Exp. group A at 3 weeks (H-E stain)
Left ($\times 40$), it is shown that newly formed bone is continuous with the bottom of the bony defect as control group shows.
Right ($\times 400$), new bone is formed near autogenous particulated bone chip.
- Fig. 7. Histologic views of Exp. group A at 6 weeks (H-E stain)
Left ($\times 40$), note that the newly formed bone is adjacent to the rough surface of implant.
Right ($\times 400$), adipose cells and hematopoietic bone marrow are abundant around the newly formed bone.
- Fig. 8. Histologic views of Exp. group B at 3 weeks (H-E stain)
Left ($\times 40$), various stained-feature of allograft material is observed in the bony defect.
Right ($\times 400$), many grafted particles were partially resorbed by foreign body giant cell at result of foreign body reaction.
- Fig. 9. Histologic views of Exp. group A at 6 weeks (H-E stain, $\times 400$)
Some grafted materials are remained, but the majority of them were fully resorbed.
The bony defect has a large of fibrous tissues and hematopoietic bone marrow as 6 weeks-Exp. group A does.
- Fig. 10. Histologic views of Exp. group A and B at 8weeks (H-E stain)
Left ($\times 40$), the defect area shows a little similarity to the control group.
Right ($\times 40$), the trabecular pattern seems like that of the Exp. group A.

FIGURES ①



Fig. 1. Insertion of fixture.

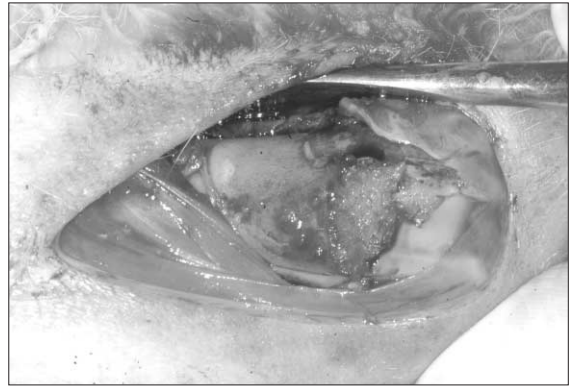


Fig. 2. Graft of DBM.

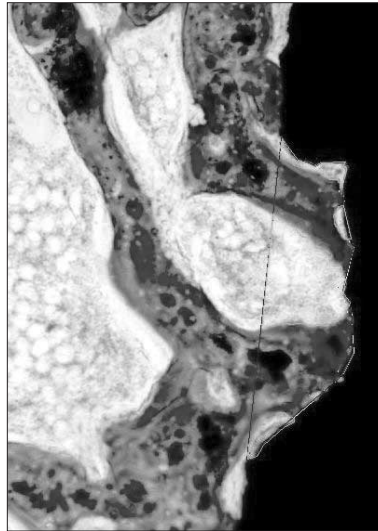


Fig. 3. Photomicrograph of histomorphometric measurement (H-E stain) : original magnificatio, ×40.

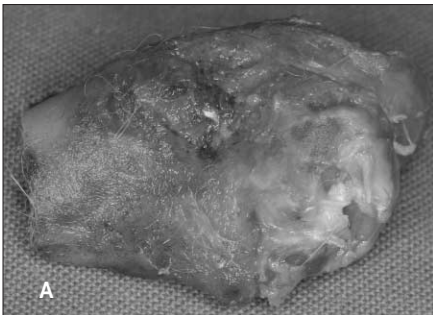


Fig. 4. Block specimen of femoral condyle (8 weeks-groups) (A, a: control; B, b: autologous; C, c: DBM.)

FIGURES ②

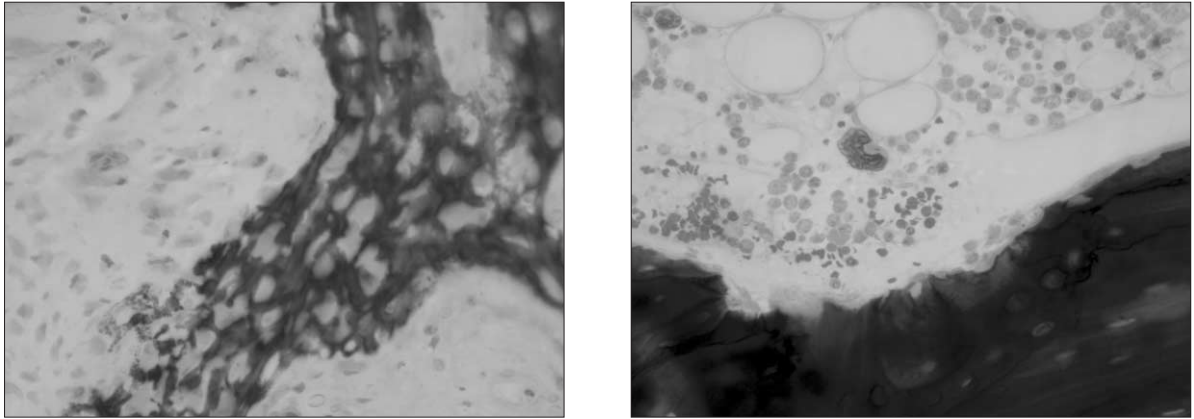


Fig. 5. Photomicrographs of control group ($\times 400$, H-E stain) : left, 3 weeks; right, 6 weeks.

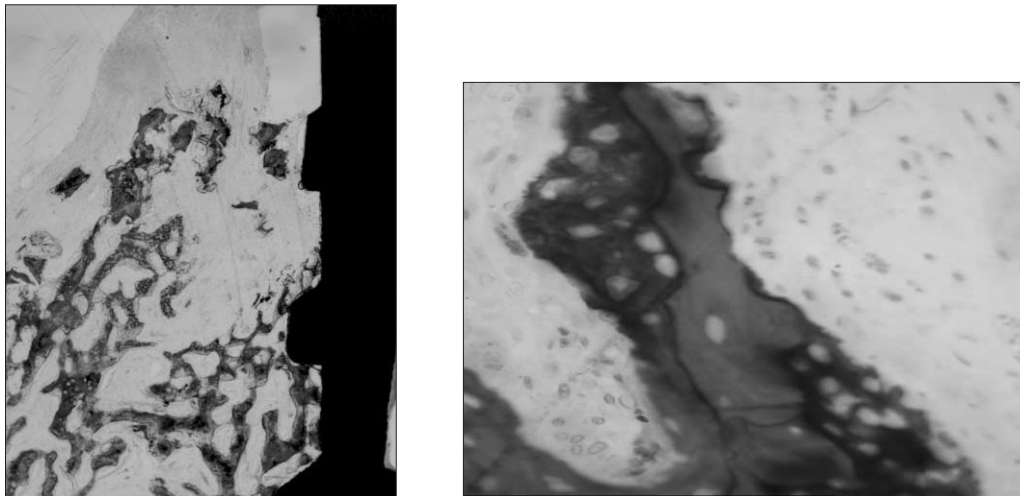


Fig. 6. Photomicrographs of Exp. group A at 3 weeks (H-E stain) : left, $\times 40$; right, $\times 400$.

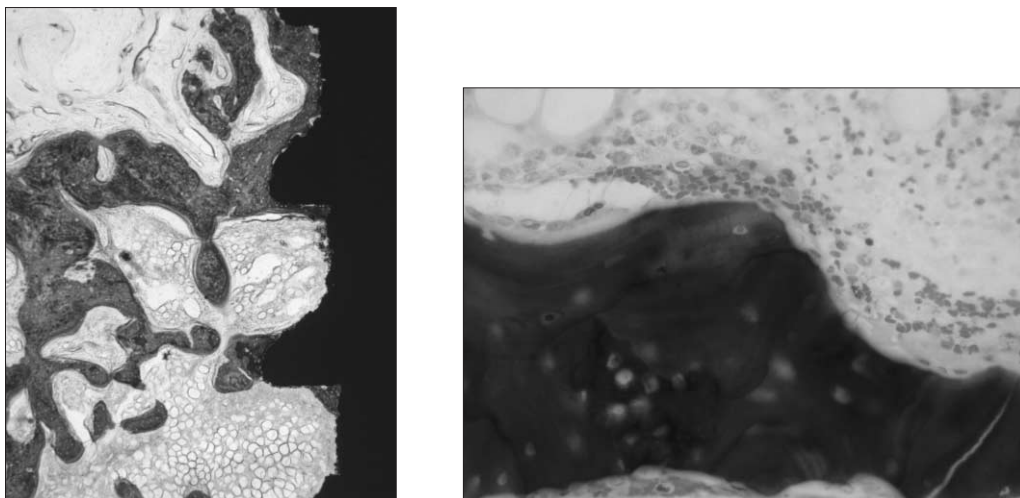


Fig. 7. Photomicrographs of Exp. group A at 6 weeks (H-E stain) : left, $\times 40$; right, $\times 400$.

FIGURES ③

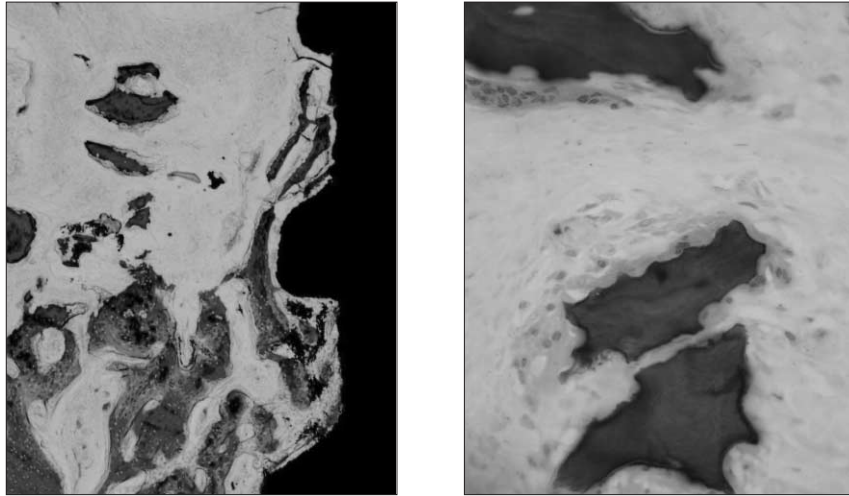


Fig. 8. Photomicrographs of Exp. group B at 3 weeks (H-E stain) : left, $\times 40$; right, $\times 400$.

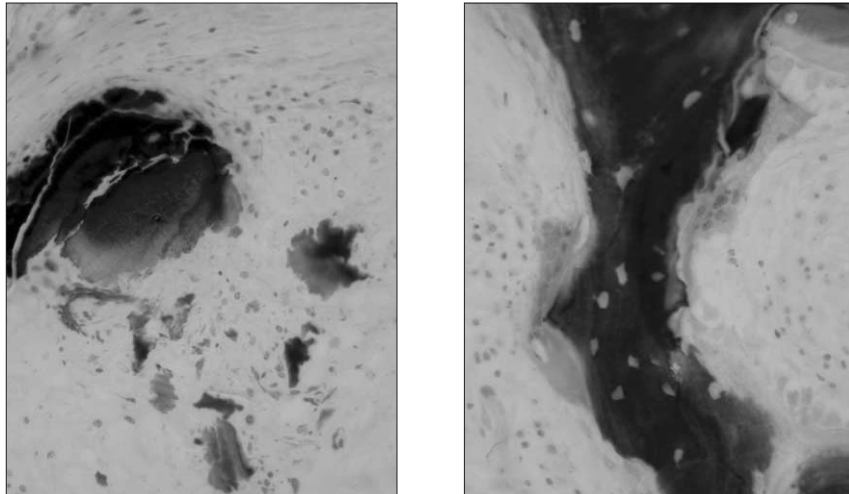


Fig. 9. Photomicrographs of Exp. group B at 6 weeks (H-E stain, $\times 400$).

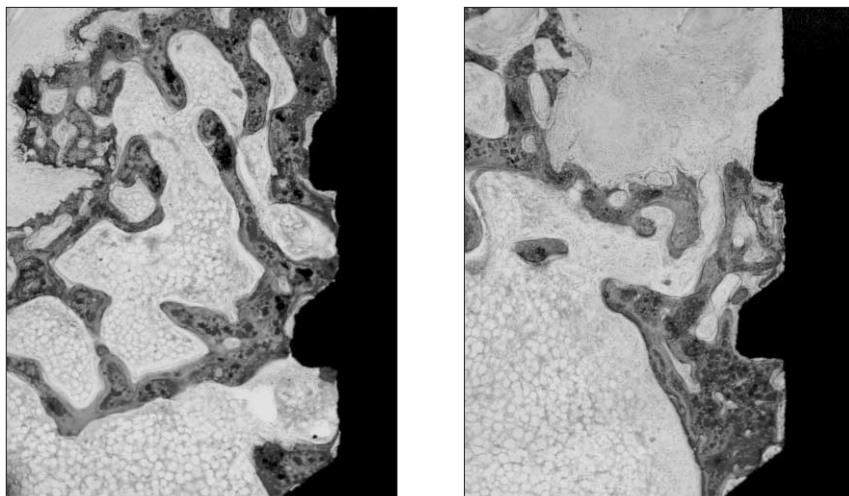


Fig. 10. Photomicrographs of Exp. group A and B at 8 weeks (H-E stain, $\times 40$) : left, Exp. group A ; right, Exp. group B.