

가토 상악동에 이식된 β -TCP의 골치유에 관한 실험적 연구

박정하 · 황경균 · 박창주 · 최용수 · 마평수 · 백승삼* · 심광섭

한양대학교 의과대학 치과학교실 구강악안면외과, *한양대학교 의과대학 병리학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2006;32:107-116)

THE EXPERIMENTAL STUDY OF THE BONE REGENERATION ON RABBIT MAXILLARY SINUS GRAFTING WITH β -TCP

Jung-Ha Park, Kyung-Gyun Hwang, Chang-Joo Park, Yong-Soo Choi,
Pyung-Soo Ma, Seung-Sam Paik*, Kwang-Sup Shim

*Division of Oral & Maxillofacial Surgery, Department of Dentistry, *Department of Pathology
College of Medicine Hanyang University*

Purpose:Maxillary sinus grafting is an effective treatment procedure to improve bone height in the posterior maxillary area for implant installation. Beta-tricalciumphosphate(β -TCP) was introduced to be grafting substitute material, providing a reasonable bio-degradation time, no need for harvesting procedure. The purpose of this study is to evaluate bone healing & regeneration phase using histomorphometric and immunohistochemical analysis.

Material & Methods:Sixteen rabbits were divided into 4 groups. Bi-lateral maxillary sinus membranes were elevated at each rabbits, β -TCP was augmented in left sinus, autogenous bone was augmented in right sinus. The rabbits were sacrificed at 2, 4, 8 and 12 weeks. We investigated the bone regeneration & growth factor expression.

Results:

1. The mean new bone volume formation was $28.99 \pm 6.55\%$, $49.54 \pm 5.47\%$, $69.09 \pm 8.90\%$ in autogenous grafted area, and $22.86 \pm 5.56\%$, $24.00 \pm 4.09\%$, $34.11 \pm 3.37\%$ in β -TCP area at 4, 8, 12 weeks. Therefore, new bone formation in autogenous bone was significantly higher than β -TCP ($p < 0.05$).
2. The BMP 2/4 expression in autogenous bone grafted area was higher at 4, 8 weeks.
3. There was no difference in expression pattern of BMP-7/PDGF/VEGF during grafted bone regeneration.

Conclusion:The authors we conclude that the autogenous bone graft was faster than β -TCP in bone regeneration, and the BMP 2/4 were more important in graft bone regeneration.

Key words: β -TCP, Rabbit, Maxillary sinus

I. 서 론

상악 구치부 치아상실에 따른 상악동저의 함기화(pneumatization)는 잔존 치조골의 높이를 감소시켜서 임프란트를 이용한 구강기능 회복을 어렵게 만든다. 이런 경우에 임프란트를 이용한 구강기능 회복을 시행하기 위해서는 잔존 치조골의 높이를 증가시키는 외과적 술식이 필요하다. 상악동저 점막 거

상술은 상악동저 점막을 거상 후 골이식을 시행하여 치조골의 높이를 증대시키는 외과적 술식으로 Boyne¹⁾이 처음 소개한 이후 Tatum²⁾, Wood³⁾등이 동시에 발표했다.

상악동저에 이식하는 골이식 재료는 골재생능과 생체적합성 및 면역반응에 유리한 자가골을 주로 사용하였다. 그러나 자가골은 이식골 채취를 위한 부가적인 수술과 감염이 발생할 수 있고, 동종골, 이종골은 후천성 면역결핍 증후군의 발생, 오염된 혈액과 조직을 통한 전염, 다른 종으로부터 질병의 전염 가능성 등의 문제점들이 야기되고 있다⁴⁾. 그래서, 최근생체친화성이 우수한 생체유리, 생체도재, polymer 등의 합성 골대체 재료가 연구 개발되고 있다^{4,8)}.

Bahn⁷⁾등이 calcium-sulfate를 인공대체물로 사용한 이후, 수산화인회석, 생체유리, 생체도재 등 골구조와 유사한 많은 재료들이 연구개발되고 있다. 생체내에 존재하는 수산화인회석 결

황경균

133-792 서울시 성동구 행당동
한양대학교 의과대학 치과학교실 구강악안면외과

Kyung-Gyun Hwang

Division of OMFS, College of Medicine Hanyang University

Hangdang-Dong, Sungdong-Gu, Seoul, 133-792, Korea

Tel: 82-2-2290-8676 Fax: 82-2-2290-8673

E-mail: hkg@hanyang.ac.kr

정은 순수한 수산화인회석과는 달리 반응성이 높아서, 최근에는 생체내에서 반응성이 높은 수산화인회석이나 생체도재 등에 대한 연구가 활발히 진행중이다⁹⁾. Beta-tricalciumphosphate(β -TCP)는 미세기공을 가진 생체활성 재료로 수산화인회석보다 높은 용해도를 보이며, 용출, 흡수의 과정을 거쳐 자가골로 치환될 수 있다고 보고된다^{8,10)}. 치과임상에서 β -TCP는 Driskell¹¹⁾ 등이 1970년대에 악골에서의 사용을 보고하였고, Pecora¹²⁾ 등은 상악동 골이식시 β -TCP의 이용을 보고하였다.

이러한 기존의 연구들은 β -TCP의 임상적용 가능성에 초점을 맞추어왔다. 하지만, β -TCP의 골형성과정에서 성장인자의 발현 및 자가골로 대체되는 기전에 관한 연구는 드물다. 이에 본 연구는 가토의 상악동에 이식된 자가골과 β -TCP에서 조직계측학적 방법을 이용하여 신생골 형성 및 이식골 흡수를, 면역조직화학적 방법을 이용한 BMP-2/4/7, PDGF, VEGF 성장인자에 대한 관찰을 통하여 이식된 β -TCP의 골형성 기전을 알아보고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

체중 평균 3.0 kg인 생후 8주 정도의 Newzealand 가토 16마리를 2, 4, 8, 12주로 각각 4마리씩 4군으로 나누어 실험하였다. 동물실험은 한양대학교 동물실험 윤리규정을 따랐다. 가토 상악골의 우측에 이식된 자가골을 대조군으로, 좌측에 이식된 β -TCP(Cerasorb[®], Germany)를 실험군으로 정하였다.

2. 연구방법

1) 수술방법

염산케타민(Ketamine[®] HCl, 유한양행) 1 cc와 xylazine(Rumpun[®], 한국바이엘) 1 cc를 근주하여 마취유도를 하였다. 가토 두경부를 삭모한 후 베타딘소독을 하였다. 수술부위 지혈을 위해 2% 리도케인 (1:100,000 에피네프린 함유) 1 앰플을 침윤마취 하였다. 두개 정중부에 10 cm 정도의 절개를 한 후 피부와 골막을 충분히 견인하여 봉합부를 노출시켰다. 비전두봉합선에서 20 mm 전방, 정중선 양쪽에서 10 mm 외측으로 5 mm 정도의 두 개의 창을 형성하였다. 각각의 dorsal choncha sinus membrane을 상악동 거상 기자를 이용해 거상시켰다. 오른쪽 상악동 점막을 거상한 부위에는 두개골에서 채취한 자가골 골편을 이식하고, 왼쪽에는 150-500 μ m의 β -TCP 0.25 g을 이식하였다. 골막과 피부는 3-0 vicryl silk를 이용해 봉합하였다. 술 후 당일과 2일까지 감염예방을 위해 황산겐타마이신(Gentamycin HCl[®], 동화제약) 1 cc씩 근주하였다(Fig. 1).

2) 조직학적 관찰

각 그룹을 실험 후 2, 4, 8, 12주 간격으로 희생하여, 비전두봉합선을 경계로 두경부를 절단후 4% paraformaldehyde로 고정을

시행하였다. 탈회는 0.1 M 인산완충용액으로 30분간 수세하여 0.1 M 인산완충용액에 희석시킨 10% EDTA로 4°C에서 10일 간 탈회 하였다. 포매와 박절을 통해 표본으로 만들고 Hematoxylin & Eosin으로 염색한 후 200배율 정도의 광학 현미경을 통해 검정하였다(Fig. 2).

3) 조직계측학적 평가

각 군에서 생성된 섬유조직과 신생골의 양을 평가하기 위해 슬라이드 표본에서 무작위로 3부위를 선택하여, 100배의 광학 현미경(Olympus[®], Japan)을 이용하여 영상을 얻은 다음 계측 프로그램(OPTIMUS 6.5 System[®], Netheland)을 이용하여 전체면적 중 잔존골, 신생골, 연조직이 차지하는 비율을 백분율로 산출하여 3부위의 평균값을 계산하였다. 각 군의 신생골이 차지하는 비율을 SPSS 10.0 프로그램을 통한 one-way ANOVA 분석을 이용하여 신뢰수준 95%에서 각각의 결과를 비교하여 군들 간의 유의성을 평가했다(Fig. 3).

4) 면역조직화학적 관찰

면역조직화학 염색과 슬라이드 제작을 위하여 streptavidin-biotin법을 이용하였다. 먼저 박절편을 xylene으로 탈과라핀화하고 각 단계의 알콜을 거쳐 함수시켰다. 증류수로 3회 세척한 후 전 처치로 0.01 M sodium citrate buffer(pH 6.0)용액에 담근 상태에서 microwave로 5분씩 2회 처리하였다. 내인성 peroxidase의 활성을 억제 시키기 위하여 3% 과산화수소수 용액으로 10분간 처리 후 증류수와 phosphate buffer solution(PBS)로 세척하였다. DAKO LSABkit(DAKO[®], U.S.A)의 blocking시약으로 20분간 부란시켜 비특이적 IgG의 결합을 방지하였다. 그리고 상온에서 각각 BMP 2/4/7, PDGF-A, VEGF의 일차항체로 1시간 이상 부란 한 뒤 PBS로 3회 세척하였다. BMP 2/4/7, VEGF의 일차항체인 polyclonal goat anti-BMP 2/4/7(SantaCruz[®], U.S.A), VEGF antibodies(SantaCruz[®], U.S.A)를, PDGF-A의 일차항체 monoclonal mouse antibody(SantaCruz[®], U.S.A)를 각각 50:1로 희석하여 사용하였다. 이 후 biotin이 표지된 이차항체로 15분간 부란한 후 PBS로 3회 세척하였다. Peroxidase가 표지된 streptavidin으로 15분간 부란시키고 PBS로 충분히 세척하였다. 조직은 갈색의 DAB(3,3-diaminobenzidine)로 5분간 발색시킨 후 증류수로 충분히 세척하였고 Meyer's hematoxyline으로 대조염색한 후 per-mount로 봉입하였다.

III. 연구 결과

16마리의 가토를 이용한 실험기간 동안 가토의 생활력 및 감염소견을 관찰한 결과 실험기간동안 합병증 없이 건강하였다. 조직학적 관찰 및 면역조직화학적 방법을 이용한 관찰을 시행하기 전, EDTA로 10일간 탈회한 후 수술부위를 종단으로 절단 하고 육안으로 관찰한 결과 오른쪽엔 자가골이, 왼쪽엔 β -TCP가 분명히 피막화 되어 주변조직과 구분지어졌다(Fig. 4).

1. 조직학적 관찰

1) 자가골 이식군

- (1) 2주 : 이식골 주위로 약간의 신생골 형성이 관찰되었고, 조골세포와 섬유아세포의 증식이 관찰되었다. 상악동 점막 주위에 생성된 신생골이 수술창 주위에 생성된 신생골보다 많이 관찰되었다(Fig. 5, 6).
- (2) 4주 : 2주 때 형성된 신생골 보다 많은 신생골의 형성이 관찰되었고, 혈관 증식이 관찰되었다. 상악동 점막 주위에 생성된 신생골이 더 많이 관찰되었다.
- (3) 8주 : 4주 때 형성된 신생골보다 많은 신생골의 형성이 관찰되었고, 주위의 골소주 양식과 비슷하게 관찰되었다. 수술창 주위에도 신생골이 많이 관찰되었지만 조밀도는 상악동 점막 주위보다 떨어졌다(Fig. 7, 8).
- (4) 12주 : 주위골과 거의 구분이 안되는 신생골 형성이 관찰되었고 점막 주위와 창 주위의 신생골 형성에도 차이가 관찰되지 않았다.

2) β -TCP 이식군

- (1) 2주 : 이식된 β -TCP주위에 많은 섬유아세포와 대식세포가 둘러싸고 있었고 약간의 신생골 형성이 상악동 점막 주위에서 약간 관찰되었다(Fig. 9, 10).
- (2) 4주 : 2주 때 형성된 신생골보다 많은 신생골의 형성이 관찰되었고, 수술창 주위에서 관찰되었던 섬유아세포와 대식세포가 많이 감소하였다. 상악동 점막 주위에 생성된 신생골이 수술창 주위에 생성된 신생골보다 많이 관찰되었다.
- (3) 8주 : 4주 때 형성된 신생골보다 많은 신생골의 형성이 관찰되었고, 수술창 부위의 신생골도 많이 관찰되었다.
- (4) 12주 : 8주 때 형성된 신생골보다 많은 신생골의 형성이 관찰되었고, 수술창 부위와 점막 주위의 신생골이 같은 정도로 관찰되었다(Fig. 11, 12).

2. 조직계측학적 평가

조직계측학적 관찰 결과 2주에서 자가골 이식부위에서의 신생골 형성이 $5.84 \pm 1.59\%$ 로, $5.13 \pm 1.09\%$ 의 β -TCP 이식부위의 신생골 형성보다 우세하였고, 4주에는 자가골 이식부위에서의 신생골 형성이 $28.99 \pm 6.55\%$ 로 관찰되었고, β -TCP 이식부위의 신생골 형성은 $22.86 \pm 5.56\%$ 로 관찰되어 유의성 있는 차이를 보였다. 8주에서는 자가골에서 $49.54 \pm 5.47\%$, β -TCP에서는 $24.00 \pm 4.09\%$ 의 신생골이 관찰되었고, 12주에서는 자가골에서 $69.09 \pm 8.90\%$, β -TCP에서는 $34.11 \pm 3.37\%$ 의 신생골이 관찰되어 갈수록 신생골 형성율에서 차이가 커졌다. 결국, 신생골 형성은 4, 8, 12주에 자가골 이식부위에서 신생골형성이 유의성 있게 높게 나타났다($p < 0.05$).

3. 면역조직화학적 분석

표본에서 BMP 2/4/7, PDGF, VEGF의 발현양상을 다음과 같이 관찰하였다. BMP 2/4/7의 발현은 신생골 주변의 조골세포에서 관찰되었고, PDGF, VEGF의 발현은 신생골 주변의 조골세포와 혈관에서 관찰되었다(Table 2).

1) 자가골 이식군

- (1) 2주 : 이식골 주변의 조골세포에서 +/-정도의 BMP 2/4/7가 발현되었고, 조골세포와 혈관에서 +++정도의 PDGF, VEGF가 발현되었다(Fig. 13, 14). BMP 2/4/7, PDGF, VEGF의 발현은 점막 주변이 수술창 주변에서 보다 높게 관찰되었다.
- (2) 4주 : 조골세포에서 ++정도의 BMP 2/4와, +정도의 BMP-7가 발현되었고, 조골세포와 혈관에서 +정도의 PDGF, VEGF가 발현되었다. BMP 2/4/7, PDGF, VEGF는 점막 주변이 수술창 주변에서 보다 높게 발현되었다.

Table 1. Histomorphometric analysis

	Autogenous Bone			β -TCP graft		
	Graft Bone (Mean \pm SD)	New Bone (Mean \pm SD)	Soft Tissue (Mean \pm SD)	Graft Bone (Mean \pm SD)	New Bone (Mean \pm SD)	Soft Tissue (Mean \pm SD)
2 weeks	80.27 \pm 8.41	5.84 \pm 1.59	13.89 \pm 2.18	84.25 \pm 9.40	5.13 \pm 1.09	10.62 \pm 2.25
4 weeks	52.87 \pm 5.24	28.99 \pm 6.55*	18.14 \pm 3.55	57.36 \pm 8.31	22.86 \pm 5.56*	19.78 \pm 4.47
8 weeks	40.50 \pm 8.04	49.54 \pm 5.47*	9.96 \pm 0.94	62.94 \pm 4.47	24.00 \pm 4.09	13.06 \pm 4.32
12 weeks	27.78 \pm 7.01	69.09 \pm 8.90*	3.13 \pm 0.86	54.16 \pm 8.49	34.11 \pm 3.37*	11.73 \pm 2.84

SD: standard deviation *p < 0.05

area(%)

Table 2. Immunohistochemical study on BMP-2/4/7/PDGF/VEGF expression

		Autogenous Bone				β -TCP graft			
		2 weeks	4 weeks	8 weeks	12 weeks	2 weeks	4 weeks	8 weeks	12 weeks
BMP-2	Sample 1	-	++	+++	++	-	-	+	+
	Sample 2	+	++	+++	+++	+	++	++	+++
	Sample 3	+	++	+	++	-	+	++	++
	Sample 4	-	++	++	+++	+/-	+	++	++
BMP-4	Sample 1	+	++	++	++	+	+/-	++	+++
	Sample 2	+/-	-	+++	+	+/-	-	+++	++
	Sample 3	+	++	++	+++	-	-	+++	+++
	Sample 4	-	+	++	+	-	+	++	++
BMP-7	Sample 1	-	+	++	+/-	-	+/-	+/-	++
	Sample 2	-	+	+	+/-	-	+/-	++	+
	Sample 3	-	+	+/-	+/-	-	+	+/-	+
	Sample 4	+	+	+	+	+	+	+	++
PDGF	Sample 1								
	Osteoblast	+	-	-	-	+	-	-	+
	vessel	++	+	+	+	+++	+	++	++
	Sample 2								
	Osteoblast	++	+	+	+	+	++	+	+
	vessel	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
	Sample 3								
	Osteoblast	+	+	+	-	++	+	+	+
vessel	++	+	++	++	+++	++	+++	+++	
Sample 4									
	Osteoblast	-	-	-	-	+	+	+	+
	vessel	++	+	+	+	++	++	+++	++
VEGF	Sample 1								
	Osteoblast	-	-	-	-	-	-	+	-
	vessel	+	+	++	+	++	+	++	++
	Sample 2								
	Osteoblast	++	-	+	-	+	-	-	+
	vessel	+++	++	++	++	+++	+	+++	+++
	Sample 3								
	Osteoblast	-	-	-	-	-	-	-	-
	vessel	++	+	++	+	++	++	+++	++
	Sample 4								
	Osteoblast	-	-	-	-	-	-	-	-
	vessel	++	+	+	+	+++	++	++	++

Positive was graded on a scale, with - representing no staining, +/- indistinct, + weak staining, ++ moderate staining, and +++ strong staining.

(3) 8주 : 조골세포에서 +++/- 정도의 BMP 2/4와, ++/- 정도의 BMP-7이 발현되었다(Fig. 15-17). 조골세포와 혈관에서 ++ 정도의 PDGF, VEGF이 발현되었다. BMP 2/4/7, PDGF, VEGF는 점막과 수술창 주변에서 비슷하게 발현되었다.

(4) 12주 : 조골세포에서 ++ 정도의 BMP 2/4와, + 정도의 BMP-7이 발현되었고, 조골세포와 혈관에서 + 정도의 PDGF, VEGF가 발현되었다.

2) β -TCP 이식군

(1) 2주 : 이식골 주변의 조골세포에서 +/-미만의 BMP 2/4/7이 발현되었다. 조골세포와 혈관에서 +++ 정도의 PDGF, VEGF가 발현되었고(Fig. 18, 19), BMP 2/4/7, PDGF, VEGF는 점막 주변이 수술창 주변보다 높게 발현되었다.

(2) 4주 : 조골세포에서 + 정도의 BMP 2/7이 발현되었고, BMP-4의 발현은 +/-미만이였다. 조골세포와 혈관에서 +/- 정도의 PDGF, VEGF이 발현되었다. BMP 2/4/7, PDGF, VEGF는 점막 주변이 수술창 주변보다 높게 발현되었다.

- (3) 8주 : 조골세포에서 ++/- 정도의 BMP 2/7가 발현되었고, BMP-4의 발현은 +++/- 정도였다, 조골세포와 혈관에서는 ++정도의 PDGF와 +정도의 VEGF가 발현되었다. BMP 2/4/7, PDGF, VEGF는 점막과 수술창 주위에서 비슷하게 발현되었다.
- (4) 12주 : 조골세포에서 ++정도의 BMP 2/4와, ++/- 정도의 BMP-7가 발현되었고(Fig. 20-22), 조골세포와 혈관에서 ++정도의 PDGF와, +정도의 VEGF가 발현되었다.

IV. 총괄 및 고찰

인공치아를 식립하기 위한 골이식재료로 가장 널리 사용되고 있는 것은 자가골이다. 자가골이식은 다른 종류의 골이식에 비해 이식편에 살아있는 조골세포 및 전구조골간엽세포가 많아 골형성이 빠르고, 면역학적 거부반응이나 질환 전파의 위험이 적다. 하지만, 자가골이식은 공여골 채취를 위한 부가적인 수술이 필요하고, 감염의 가능성 및 및 공여할 수 있는 골의 양도 한계가 있다. 그러므로 자가골 대신 동종골, 이종골이나 생체친화성이 우수한 골대체 물질이 많이 사용되어 왔다. 동종골과 이종골은 임상에서 많이 사용되고 있지만, 감염, 후천성 면역결핍 증후군 등의 전염성 질환을 완전히 배제하지 못한다는 단점을 갖고 있어, 많은 나라에서는 사용을 엄격히 규제하고 있는 실정이다. 이로 말미암아 생체친화성이 우수한 수산화인회석, 생체유리, 생체도재, polymer 등의 합성 골대체재들이 개발되고 있다. 이중 β -TCP는 무균의 인공재료로 혈액이나 조직을 매개로 하는 감염의 위험성을 제거 할수 있는 생체친화성 골대체재료이다. β -TCP는 미세기공으로 연결된 생체활성재료로 HA보다 높은 용해도를 보이며, 다른 calcium phosphate ceramic보다 빠른 흡수를 보이고, 용출, 흡수의 과정을 거쳐 자가골로 치환된다¹¹⁾.

Ducheyne¹⁴⁾ 등은 ceramic이 용해, 침전, 이온변화, 침착, 화학주성, 세포부착과 증식, 세포분화, 세포외기질형성이라는 기전을 통해 골로 대체된다고 보고하였다. Lu¹⁵⁾ 등은 TCP의 생체분해가 물리적, 화학적인 용해과정을 거치는 단계와 파골세포와 식세포의 분해과정에 의해서 일어나고, 이식초기에는 주로 물리 화학적인 분해과정이 주를 이루고, 후반기로 갈수록 세포와 관련된 형태의 흡수를 보이면서 골개조 현상이 일어난다고 보고하였다. Merten¹⁶⁾ 등은 동물실험에서 약 20주간의 점진적인 ceramic 흡수가 보이며, 동시에 임프란트를 식립했을 경우 완전한 골유착은 보이지 않았다고 보고하였다. 점진적인 흡수기간 동안 free ceramic degradation particle이 골수관에서 발견되었고, 그것은 동시에 식립된 임프란트의 골유착에 악영향을 끼칠수 있다고 하였다. 더욱이 phagocytic cell들이 많이 집적되어 있으면 역시 골유착에 악영향을 끼칠수 있다고 주장하였다. 그래서 임프란트는 보통 이식후 5내지 6개월 후에 식립되어야 한다고 하였다. Szabo⁶⁾ 등은 실험에서 순수 β -TCP는 보통 12-18개월 동안 완전히 흡수된다고 하였으며 기능적인 면이나 해부학

적인 면에서 원래 골과 매우 유사한 골로 대체된다고 보고하였다. β -TCP를 이식한 후 6개월이 지난 후에 일부 β -TCP의 과립이 선명하게 관찰되었으며, 과립들은 새롭게 형성된 골에 매입되어 있었고, 다양한 비율로 골유조직이나 연조직이 존재되어 있었으며 골유형은 대부분 층판골이었다고 보고하였다. 이런 유리한 성질로 β -TCP를 단독으로 이용하여 상악동저점막 거상후 골이식이나 커다란 낭의 충전재료로 사용될 수 있음을 시사하였다. 부분적으로 흡수된 β -TCP의 표면을 따라 골침착이 관찰되기도 하였다. β -TCP의 과립이 분해되면서 골형성의 과정으로 결합조직 증식과 혈관재생 과정을 거치게 된다. 염증반응이나 foreign body giant cell reaction은 일어나지 않았다고 보고하였다. 결과적으로 β -TCP의 완전한 분해가능성과 자가골과의 혼합사용의 불필요성을 주장하였다⁷⁾.

상악동은 상악 구치부의 양쪽에 존재하는 피라미드모양의 구조물로, 전상방에 비강과 연결되어 있는 ostium이 있고, 내부 점막은 주로 pseudostratified ciliated epithelium으로 이루어져 있으며 용적은 10-20 ml 정도이다. 수술시야 확보의 어려움, 격벽의 존재, 상악동저점막과 골막과의 점착성, 낮은 산소분압 등으로 골이식시 어려움을 겪고 있다¹²⁾. Jeffrey¹⁶⁾ 등은 상악동 골이식시 골이식재료로의 기준으로 독성이 없고, 항원요소가 없으며, 움직이지 않으며, 감염에 저항하고, 쉽게 조작이 가능하며, 탄성이 있으며, 기능적 재형성이 이루어지며, 임프란트의 초기고정에 도움을 주며, 장기적인 골유착을 가능하게 하는 골이식재료써의 기준을 정하였다. 탈회냉동건조골은 낮은 산소분압을 나타내는 상악동내에서 rubbery consistency가 지속되고, 낮은 골생성을 나타내어 단독사용은 추천하지 않는다^{13,16)}. Watanabe¹⁷⁾ 등은 자가골을 이식한 가토의 상악동 이식 실험에서 면역계측학적으로 관찰한 결과 상악동의 잔존골들이 2주, 4주, 8주후에 35.2%, 41.9%, 32.7% 정도 남아 있었고, 조직학적으로는 2주후부터 신생골이 관찰되기 시작했고, 4주후부터는 층판골 구조가, 8주후부터는 거상된 점막 아래쪽으로 피질골이 부분적으로 관찰되었음을 보고했다. 본 실험에서는 자가골을 이식한 후의 2주, 4주, 8주, 12주 후의 잔존골비는 80.27%, 52.87%, 40.50%, 27.78%이었고, β -TCP를 이식한 후 2주, 4주, 8주, 12주 후의 잔존골비는 84.25%, 57.36%, 62.94%, 54.16%이었다. 각 실험에서의 결과의 차이는 자가골 채취부위의 차이, 실험 동물종의 차이, 뼈 시편을 얻는 방법의 차이로 보인다. 조직학적으로는 위의 실험과 동일하게 자가골과 β -TCP를 이식한 곳에서 2주후부터 신생골이 관찰되었으며, 자가골 이식부위에서는 8주이후에, β -TCP 이식부위에서는 12주에 주위의 골소주 양식과 비슷한 정도로 신생골이 성숙되었음이 관찰되었다.

Bolander¹⁸⁾ 등은 손상받은 골조직의 치유과정을 염증반응과 육아조직을 형성하는 단계, 막내골화 단계, 연골화 단계, 연골내 골화 단계등의 4단계로 분류하고, 골형성에 관련된 성장인자의 발현은 각 단계별로 다르게 나타난다고 보고했다. 골형성과 골개조 과정에 관련된 BMP 또는 골형성에 관련된 단백질의 발현양상도 이식골의 치유과정에서 여러단계에 따라서 다르게 나타난다^{19,20)}. 파골세포에 의한 이식골의 흡수는 조골

세포의 활성을 증가시켜 BMP의 발현을 활성화시킬 수 있다는 보고가 있다²¹⁾. BMP-2/4은 골유도 인자로 미분화간엽세포의 연골분화를 자극하고, 연골내 골 형성을 유도한다. BMP-2/4는 주로 혈소판이나 혈관내피세포에 집적되어 있다. 여러 가지 BMP 중 BMP 2/4는 낮은 농도에서의 골형성 능력이 뛰어나기 때문에 BMP에 의한 골형성 유도를 검증하는 동물실험에서 많이 이용되고 있다. BMP-7은 BMP-2와 함께 OP-1 (Osteogenic protein-1)이라 불리며 골형성을 유도시키는 능력이 있다고 보고 된다. 하지만, Stenport²²⁾ 등은 실험에서 작은 골 결손에 rh-BMP-7을 적용하였지만, 효과적인 골형성은 관찰되지 않았다고 한다. 본 실험에서도 골이식시 나타나는 BMP-7의 발현은 2, 4, 8, 12주 모두에서 BMP-2/4보다 적었다. BMP에서의 발현이 파골세포와 조골세포의 활성을 완전히 나타내지는 않지만, 골조직이 손상의 치유나 골형성에 관련된다고 보면 이식골 주변의 골형성단백질의 발현은 골형성이 활발하게 일어나는 시기와 파골세포에 의해 이식골의 흡수 또는 분해과정이 일어나는 시기를 결정하는데 중요한 단서가 된다^{23,24)}. Lee²⁵⁾ 등은 가토를 이용한 실험에서, 자가골 이식에 있어서 4주를 기점으로 해서 BMP-2/4의 발현이 감소하는 경향을 보고 하였다. 이는 자가골 이식에서 BMP와 관련된 골재생은 4주 이전에 일어난다고 할 수 있다. 반면 β -TCP이식후 BMP-2/4의 발현은 4-12주로 갈수록 증가하는 것으로 보아 자가골 이식때 보다는 지연된 골재생을 보였다. 본 실험에서 BMP-2/4는 자가골에서 8주, β -TCP에서 12주에서 ++이상의 발현이 관찰되어 신생골 형성과 연관성이 높은 것으로 보였으나, BMP-7에서는 자가골에서 4주, β -TCP에서 8주에 발현도가 +정도로 가장 높게 나타나 BMP-2/4보다는 발현도가 낮았다. 이로써, BMP-7보다 BMP-2/4가 골재생에서 더 중요하다는 것을 알 수 있다.

Wiltfang¹⁷⁾ 등은 상악동 거상후 골이식 실험에서 β -TCP와 platelet-rich plasma(PRP)를 섞으면 새로운 골의 형성이 8-10% 정도 증가하지만, 빠른 분해는 나타나지 않았다고 하였다. 골유도기능을 가진 PRP내의 cytokine은 TGF- β 1, TGF- β 2, PDGF, IGF-I등이며 더 빠른 integration을 위해 사용될수 있으며, 자가골 대용으로 사용 될 수 있다고 하였다. 이런 cytokine은 골형성 및 혈관재생 과정에 중요한 역할을 하며 특히 PDGF는 거의 모든 상처치유반응에 관여하고 있다. PRP 그룹에서는 많은 수의 foreign body giant cell이 관찰되었고 ceramic granule이 모두 직접 골접촉을 이루지 않고, 연조직이 부분적으로 매입되었다는 것이다. 이는 PRP내의 TGF- β 로 설명되어 질수 있고, 섬유아세포의 화학주성을 도와주는 역할을 한다⁶⁾. PDGF의 합성은 외부자극 즉, 낮은 산소분압, thrombin, 다른 성장인자의 자극 등에 의해 늘어나게 된다. 화학주성이며 미분화간엽세포의 활성을 유도한다. PDGF의 국소적 주입은 골형성을 유도하고, 몇몇 동물 모델에서 조골세포에 대한 분열촉진효과를 가졌다고 보고하였다. 본 실험에서 PDGF의 발현은 자가골에서는 2주에 ++/로 가장 높게 나타났고, β -TCP에서도 2주에 ++로 가장 높게 나타나, 주로 골재생 초기에 높게 발현됨을 알 수 있었다. VEGF는 가장 잘 알려진 혈관형성의 유도인자로 알려져 있으며, 골의 초기

치유에도 도움을 준다고 알려져 있다^{4,26)}. Street²⁷⁾ 등은 실험에서 골의 초기치유 과정에서 VEGF의 발현도가 높다고 보고했다. 본 실험에서도 자가골, β -TCP이식군에서, 2주에서의 VEGF의 발현도가 가장 높게 관찰되어 위의 실험과 일치 하였다. β -TCP의 PDGF, VEGF의 발현시기와 신생골 형성시기는 자가골과 비슷하였고, BMP발현이 자가골에 비해 늦어짐이 관찰 되었다. 이로보아 β -TCP의 신생골 형성이 자가골에 비해 늦어지는 이유는 신생혈관 생성의 지연보다는 자가골에 내재된 BMP의 부재 때문인 것으로 판단되어진다. 향후 β -TCP의 신생골 형성 속도를 촉진시키기 위한 골형성단백질의 복합이식, 이식된 골재료에 대한 자기장 처리 등에 대한 연구가 계속 필요하다.

V. 결 론

본 연구는 가토의 양쪽 상악동 점막을 거상한 후 자가골과 β -TCP를 동시에 이식하여 조직화적인 관찰과 조직계측학적 평가를 시행하고, BMP 2/4/7, PDGF, VEGF가 분포하는 세포 및 작용시기, 발현양상을 면역조직화화법을 통해 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 신생골 형성은 4, 8, 12주에 자가골 이식부위에서 28.99±6.55%, 49.54±5.47%, 69.09±8.90%로 나타났고, β -TCP 이식부위에서 22.86±5.56%, 24.00±4.09%, 34.11±3.37%로 나타나 자가골 이식부위에서의 신생골형성 β -TCP 이식부위에서 보다 유의성 있게 높게 나타났(p<0.05).
2. BMP 2/4의 발현은 4, 8주에서 자가골 이식부위에서 β -TCP 이식부위보다 많이 관찰되었다.
3. BMP-7, PDGF, VEGF의 발현은 골재생 기간에 자가골과 β -TCP 이식부위에서 비슷하게 관찰되었다.

결론적으로, 자가골 이식부위에서의 신생골 형성이 β -TCP 이식부위에서 보다 빨랐으며 BMP 2/4가 BMP-7, PDGF, VEGF보다 골재생에 있어서 더욱 중요하다고 할 수 있겠다.

참고문헌

1. Boyne PJ, James R: Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. J Oral Surg 1980;38:613-618.
2. Tatum OH: Maxillary and sinus implant reconstruction. Dent Clin North Am 1976;30:207-229.
3. Wood RM, Moore DL: Grafting of the maxillary sinus with intraorally harvested autogenous bone prior to implant placement. Int J Oral Maxillofac Implants 1988;3:209-214.
4. Laurencin CT: Bone Graft Substitutes. ASTM International. 2003. pp.180-187.
5. Merten HA, Wiltfang J, Grohmann U et al: Intraindividual Comparative Animal Study of α - and β -Tricalcium Phosphate Degradation in Conjunction with Simultaneous Insertion of Dental Implants. J Craniofac Surg 2001;12:59-68.
6. Szabo G, Suba Z, Hrabak K et al: Autogenous Bone Versus β -Tricalcium Phosphate Graft Alone for Bilateral Sinus Elevations (2- and 3-Dimensional Computed Tomographic, Histologic, and Histomorphometric Evaluations): Preliminary Results. Int J Oral Maxillofac Implant 2001;16:681-692.
7. Bahn S: Plaster: A Bone substitute. Oral Surg, Oral Med Oral Pathol 1966;21:672-681.

8. Saito M, Shimizu H, Beppu M et al: The role of β -Tricalcium Phosphate in vascularized periosteum. *J Orthop Sci* 2000;5:275-282.
9. Watanabe K, Niimi A, Ueda M: Autogenous bone graft in the rabbit maxillary sinus. *Oral Surg Oral Med Oral Radiol Endod* 1999;88:26-32.
10. Ogose A, Hotta T, Hatano H et al: Histological examination of β -TCP graft in human femur. *J Biomed Mater Res* 2002;63:601-604.
11. Lu J, Descamps M, Dejou J et al: The Biodegradation Mechanism of Calcium Phosphate Biomaterials in Bone. *J Biomed Mater* 2002;63:408-412.
12. de Leonardis D, Pecora GE: Augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: histological results. *J Periodontol* 2000;30:153-156.
13. Jensen OT: *The Sinus Bone Graft*. Quintessence. Publishing Co, Inc. 1999. pp.1-6, 17-31, 79-95.
14. Ducheyne P, Qiu Q: Bioactive ceramics : The effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials* 1999;20:2287-2303.
15. Paolo T, Walter R, Alberto R et al: Histoic Effect of Pure-phase Beta-Tricalcium phosphate on Bone Regeneration in Human Artificial Jawbone Defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003;23:69-77.
16. Alex MG, Joachim P: *Craniofacial Reconstructive and Corrective Bone Surgery*. Springer International 2002. pp.174-209.
17. Watanabe K, Niimi A, Ueda M: Autogenous bone grafts in the rabbit maxillary sinus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;88:26-32.
18. Bolander MR: Regeneration of fracture repair by growth factors. *Proc Soc Exp Bio Med* 1992;200:165-170.
19. Taylor JC, Cuff SE, Leger JP et al: In vitro osteoclast resorption of bone substitute biomaterials used for implant site augmentation : A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implant* 2002;17:321-330.
20. Flautre B, Maynou C, Lemaitre J et al: Bone colonization of β -TCP granules incorporated in brushite cements. *J Biomed Mater Res* 2002;63:413-417.
21. Kloen P, Di paola M, Borens O et al: BMP signaling components are expressed in human fracture callus. *Bone* 2003;33:362-371.
22. Stenport VF, Johansson C, Heo SJ et al: Titanium implants and BMP-7 in bone: an experimental model in the rabbit. *J Mater Sci Mater Med* 2003;14:247-254.
23. Urist MR, Raskin K, Goltz D et al: Endogenous bone morphogenic protein : immunohistochemical localization in repair of a punch hole in the rabbit' s ear. *Plast Reconstr Surg* 1997;99:1382-1389.
24. Trisi P, Rao W, Rebaudi A et al: Histologic effect of pure-phase beta-tricalcium phosphate on bone regeneration in human artificial jawbone defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003;23:69-77.
25. SH Lee, SI Song, KG Hwang et al: The experimental study of the bone regeneration on β -TCP in rabbit cranial bone. *J Kor Oral Maxillofac Surg* 2004;30:282-291.
26. Hai J, Li ST, Lin Q: Vascular Endothelial Growth Factor Expression and Angiogenesis Induced by Chronic Cerebral Hypoperfusion in Rat Brain. *Neurosurgery* 2003;53:963-978.
27. Street J, Bao M, deGuzman L et al: Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *PNAS* 2002;99:9656-9661.

사진부도 설명

- Fig. 1. Surgical site view (A: autogenous bone, B: β -TCP).
- Fig. 2. Vertical section view of the grafted site, 4 week ($\times 12$, H&E) A: septum, B: autogenous bone grafted site, C: β -TCP grafted site.
- Fig. 3. Example of histomorphometric analysis using OPTIMUS 6.5 system.
- Fig. 4. Vertical section view of the grafted site(A: β -TCP, B: autogenous bone).
- Fig. 5. Autogenous bone graft around membrane. Microscopic exam. 2 week ($\times 200$, H&E) B: autogenous bone, arrow indicate osteoblast expression, M: sinus membrane.
- Fig. 6. Autogenous bone graft around surgical window. Microscopic exam. 2 week ($\times 200$, H&E) B: autogenous bone, arrow indicate osteoblast expression, SW: surgical window.
- Fig. 7. Autogenous bone graft around membrane. Microscopic exam. 8 week ($\times 200$, H&E) B: autogenous bone, arrow indicate osteoblast expression, M: sinus membrane.
- Fig. 8. Autogenous bone graft around surgical window. Microscopic exam. 8 week ($\times 200$, H&E) B: autogenous bone, arrow indicate osteoblast expression, SW: surgical window.
- Fig. 9. β -TCP graft around membrane. Microscopic exam. 2 week ($\times 200$, H&E) A: β -TCP, arrow indicate osteoblast expression, M: sinus membrane.
- Fig. 10. β -TCP graft around surgical window. Microscopic exam. 2 week ($\times 200$, H&E) A: β -TCP, arrow indicate osteoblast expression, SW: surgical window.
- Fig. 11. β -TCP graft around membrane. Microscopic exam. 12 week ($\times 200$, H&E) A: β -TCP, arrow indicate osteoblast expression, M: sinus membrane.
- Fig. 12. β -TCP graft around surgical window. Microscopic exam. 12 week ($\times 200$, H&E) A: β -TCP, arrow indicate osteoblast expression.
- Fig. 13. PDGF show around autogenous bone graft. Immunohistochemical exam. 2 week ($\times 400$) arrow indicate the PDGF expression.
- Fig. 14. VEGF show around autogenous bone graft. Immunohistochemical exam. of 2 week ($\times 400$) arrow indicate the VEGF expression.
- Fig. 15. BMP-2 show around autogenous bone graft. Immunohistochemical exam. 8 week ($\times 400$) arrow indicate the BMP-2 expression.
- Fig. 16. BMP-4 show around autogenous bone graft. Immunohistochemical exam. 8 week ($\times 400$) arrow indicate the BMP-4 expression.
- Fig. 17. BMP-7 show around autogenous bone graft. Immunohistochemical exam. 8 week ($\times 400$) arrow indicate the BMP-7 expression.
- Fig. 18. PDGF show around β -TCP graft. Immunohistochemical exam. 2 week ($\times 400$) arrow indicate the PDGF expression.
- Fig. 19. VEGF show around β -TCP graft. Immunohistochemical exam. 2 week ($\times 400$) arrow indicate the VEGF expression.
- Fig. 20. BMP-2 show around β -TCP graft. Immunohistochemical exam. 12 week ($\times 400$) arrow indicate the each BMP-2 expression.
- Fig. 21. BMP-4 show around β -TCP graft. Immunohistochemical exam. 12 week ($\times 400$) arrow indicate the BMP-4 expression.
- Fig. 22. BMP-7 show around β -TCP graft. Immunohistochemical exam. 12 week ($\times 400$) arrow indicate the BMP-7 expression.

사진부도 ①

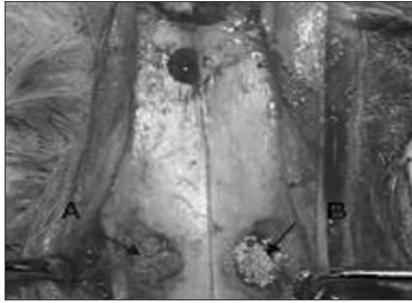


Fig. 1

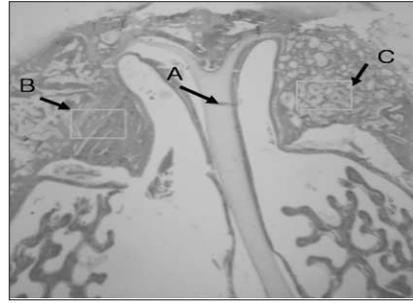


Fig. 2

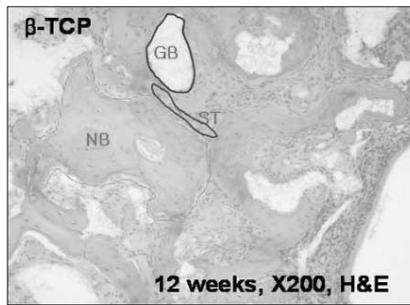
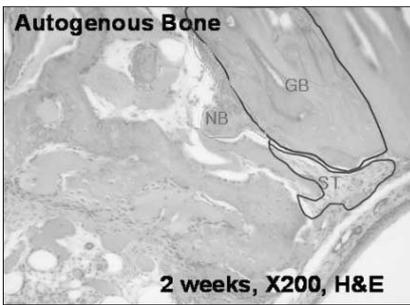


Fig. 3

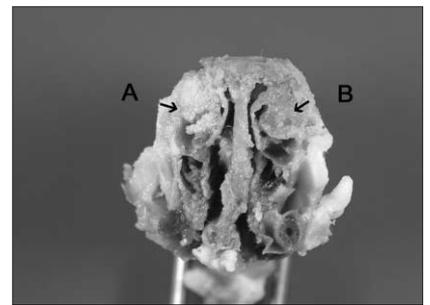


Fig. 4

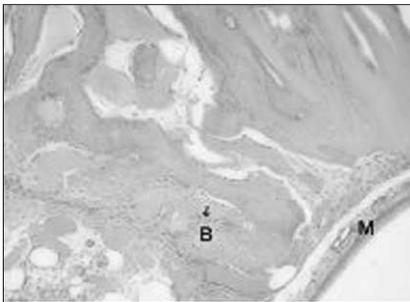


Fig. 5

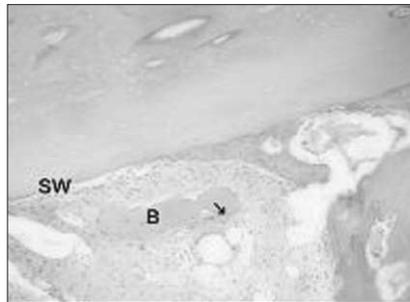


Fig. 6

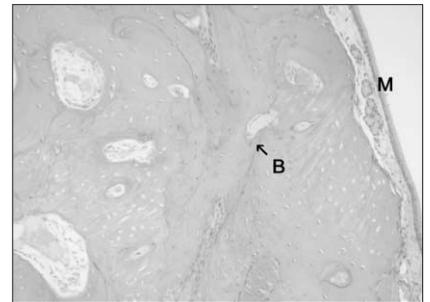


Fig. 7

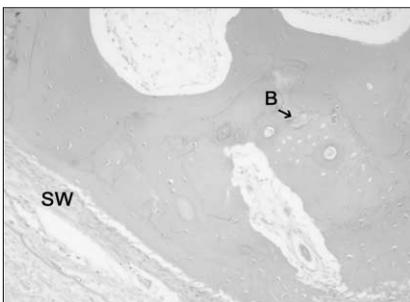


Fig. 8

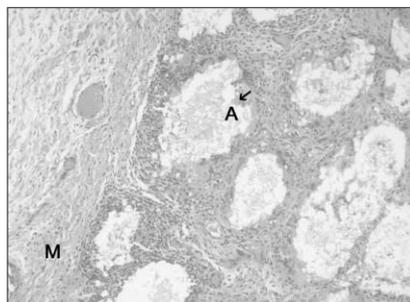


Fig. 9

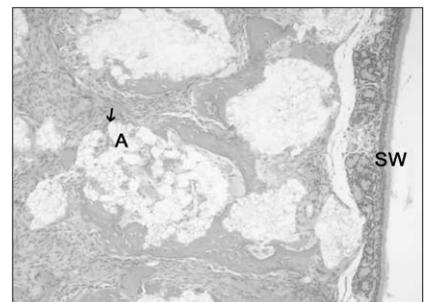


Fig. 10

사진부도 ②

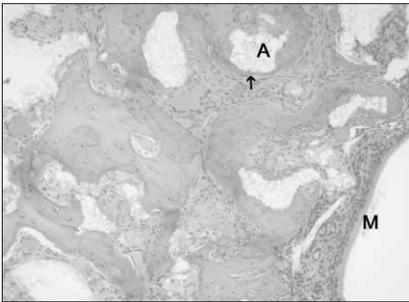


Fig. 11

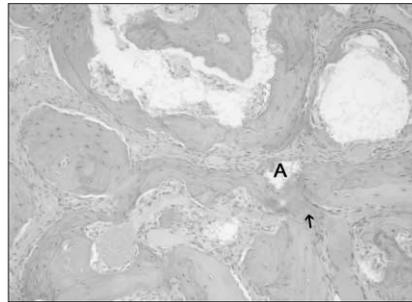


Fig. 12

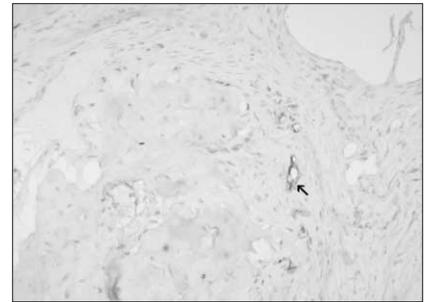


Fig. 13

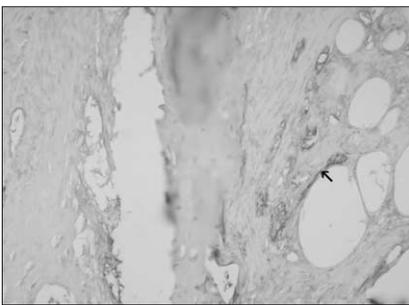


Fig. 14

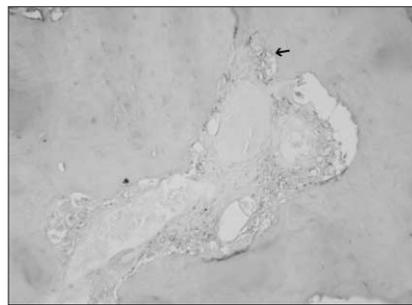


Fig. 15

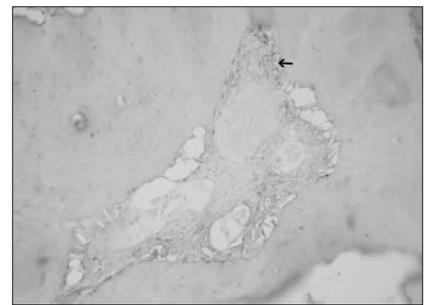


Fig. 16

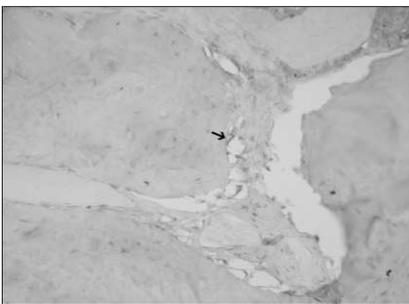


Fig. 17

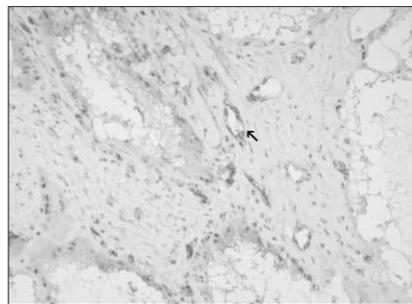


Fig. 18

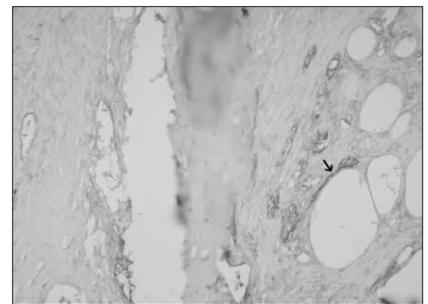


Fig. 19

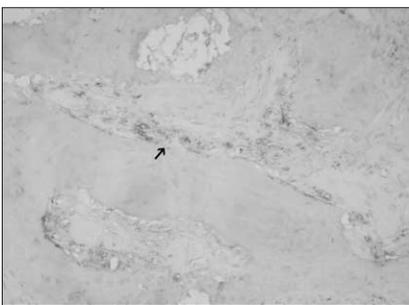


Fig. 20

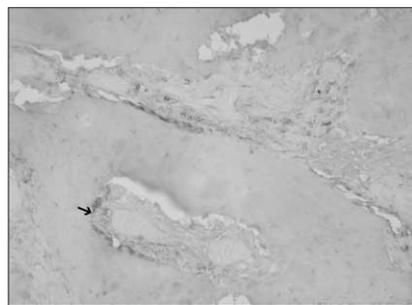


Fig. 21

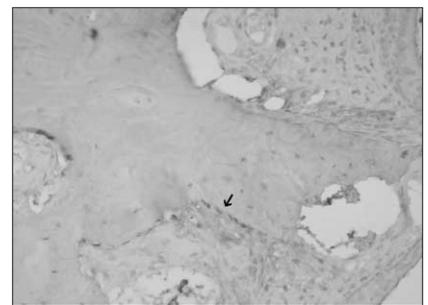


Fig. 22