

백서에서 치아회분말과 치과용 연석고의 혼합매식술에 관한 실험적 연구 : 혼합 비율에 따른 비교

*조선대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, **구강병리학교실

김영균* · 여환호* · 조재오**

THE EXPERIMENTAL STUDY OF IMPLANTATION COMBINED WITH TOOTHASH AND PLASTER OF PARIS IN THE RATS : COMPARISON ACCORDING TO THE MIXING RATIO

Young-Kyun Kim, D.D.S., Ph.D.*, Hwan-Ho Yeo, D.D.S., Ph.D.*
Jae-O Cho, D.D.S., Ph.D.**

*Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery,

**Dept. of Oral Pathology College of Dentistry, Chosun University

This study was performed to determine the ideal mixing ratio of toothash and plaster of Paris. The histopathologic and histomorphometric study of bone response of five implant materials, toothash(Group A), tooth and plaster mixture, mixing ratio due to weight 2 : 1(Group B), 3 : 1(Group C), 4 : 1(Group D), and plaster of Paris(Group E), were performed in rat calvarial defect. No sign of extensive inflammatory reaction was detected. Newly-formed bony ingrowth occurred in all experimental groups except for group E at 12 weeks after operation. Bone was deposited directly on the surface of implant materials. The highest rate of direct bony union between implant material and newly-formed bone occurred with the group B, followed group C, D, and A.

I. 서 론

경조직 결손부의 수복을 위해 자가골 이식이 가장 이상적인 것으로 인식되었으며 과거부터 현재까지 가장 많이 사용되고 있는 이식재료이지만, 공여부의 필요성, 흡수 등의 단점이 있어서 사용상 제한을 받고 있다. 따라서 신선 자가골을 대용하기 위한 재료 개발이 활발히

이루어져왔고, 냉동건조, 방사선 조사, 압열 멸균처리한 동종골 및 이종 골에 대한 연구가 진행되었으며, 임상에 사용되기도 하였다. 그러나 이러한 것들은 재혈관화가 늦고 면역거부반응, 질환전염 가능성 등의 단점을 내재하고 있다. 따라서 인공적으로 제작한 합성부원형자 물질이 개발되기에 이르렀고, 특히 외형결손부의 재건을 위해서는 이식물의 임상적 유효성이

* 이 논문은 1994년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음

중요한 것이 아니고, 이식후 변화없이 장기간 유지되는 것이 중요하기 때문에 두부, 관골부, 상악골 전방부, 그리고 턱 등의 증강 술과 같은 심미성형술에서는 아주 유용하게 사용될 수도 있다. 합성부원형자 물질들중 ceramic 계통의 Hydroxylapatite제제가 가장 많이 이용되고 있으며, 실험적 연구 및 임상적 연구가 부단히 지속되고 있다. 그러나 가공상의 문제와 가격이 비싼 것이 단점으로 제기되고 있으며, 분말형을 단독으로 매식할 경우에는 유지에 상당한 문제점이 발생하게 된다. 이러한 문제점을 해결하고자 저자 등은 치과에서 발치후 폐기 처리되는 치아들을 재활용하여 이용하기로 하였으며, 면역거부반응을 억제하고자 윤 등이 제시한 방법대로 950°C의 휘니스에서 고온 처리한 후, 약제분말기로 미세한 분말을 제작하면 주성분이 Hydroxylapatite인 매식제를 생산할 수 있게 된다. 치아회분말에 대한 실험적 검증은 윤 등과, 저자 등이 수년간 시행한 연구에서 이루어졌고, 임상에서 충분히 사용할 수 있는 가능성이 제시된 바 있다. 그러나 치아회분말을 단독 매식할 경우엔 역시 정위치에 유지시킬 수 없는 어려움이 있다. 따라서 유지력을 증강시키고자 생체적합성이 있으며, 흡수성이고 골 전도 능력이 있으며, 시중에서 쉽게 구할 수 있고 가격이 저렴한 치과용 연석고를 혼합 매식하기에 이르렀으며, 저자 등의 기존 연구에서 실험적 및 임상적으로 사용 가능성이 검증되었다.

저자 등은 치아회분말과 치과용 연석고의 각각의 장점이 상호 보완되면서 골결손부 치유에 양호한 영향을 미칠 수 있는 이상적인 혼합비율을 결정하는 것이 중요하며, 이것은 장차 임상에서 사용할 수 있는 기준을 제시해 준다는 점에서 상당히 의의가 있다고 사료되어 본 실험적 연구를 시행하기로 결정하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 동일조건하에서 일정한 기간 사

육한 후, 태생 6주이상, 체중 200gm이상의 Sprague-Dawley계 백서 75마리를 실험대상으로 한다.

2. 매식 재료

1) 치아회분말

사람에서 발거된 상태가 양호한 치아들을 생리 식염수로 세척한 후, 950°C 휘니스에서 회화하여 약제 분말기를 이용하여 100mesh(0.149mm)의 미세한 입자 크기로 제작하여 매식제로 이용한다.

2) 치과용 연석고

치과에서 빈번히 사용되는 연석고(Plaster of Paris)를 매식제로 사용한다.

3) 매식제의 혼합

매식할 재료들은 치아회분말 단독매식군(A군), 치아회분말 : 치과용 연석고 = 2 : 1(무계비) (B군), 3 : 1(C군), 4 : 1(D군), 치과용 연석고 단독매식군(E군)으로 분류하여 미리 종이에 포장한 후, Ethylene-oxide gas로 멸균 처리하여 실험전까지 보관한다.

3. 실험 방법

백서를 Ether를 흡입하여 마취시킨 후, 복강에 추가로 Pentobarbital sodium(25mg/kg)을 주입하여 완전 마취한다. 술전에 감염방지 목적으로 Gentamycin 0.05ml/kg를 근육 주사한 후, 술부를 제모 및 소독한다. 2% Lidocaine HCl(1 : 10만 Epinephrine)을 지혈목적으로 주사한 후, 두개골정중부에 절개하여 골막을 노출시킨다. 노출된 두개골의 정중상부에 #1/4 round bur를 이용하여 8×8mm 크기의 정사각형 전층 골 결손을 야기시킨 후, 미리 준비한 매식재료를 즉각 이식하고, 골 막을 포함하여 충별로 견고히 봉합한다.

4) 실험동물의 희생

실험 후, 1, 3, 5, 8, 12주째 Ether를 과도 흡입시켜 희생한 후 두부를 절단하여 Formalin 용액에 고정하여 보관한다. 각 주당 3마리씩 배정하였다.

5. 연구결과 관찰 방법

1) 조직병리학적 관찰

매식된 경계부를 포함하여 조직편을 채취한 후, 일정기간 고정하고, 탈회 및 포매과정을 거쳐, Hematoxylin-Eosin으로 이중 염색하여 광학현미경으로 흡수정도, 신생골의 형성, 염증반응 유무 등의 치유과정을 분석한다.

2) 조직형태계측학적 연구

12주 A, B, C, D 실험군의 조직 표본을 대상으로 무작위로 매식 경계부 7부위를 40배 상태에서 검사하여 컴퓨터 측정기(Image Pro-Plus)에 상을 입력하고 마우스를 이용하여 형성된 신생골과 매식 분말과의 직접골 융합부위를 추적함으로써 결합부 길이를 측정한다. 각 실험군의 측정치를 SPSSPC-Plus(ver 2.0) 통계 프로그램을 이용하여 Kruskal-Wallis one-way 분산분석을 시행하여 순위 검증한다.

III. 연구 결과

1. 조직병리학적 소견

1) 1주 소견

모든 군에서 임파구와 혈장세포 침윤에 의한 염증 소견과 조직 부종이 관찰되었으며 다핵거대세포의 침윤이 존재하였다. 그리고 섬유성 결체조직에 의한 피막 형성이 나타났으나 조골세포의 활성화는 인지되지 않았다. 특히 E군에서는 공포의 형태를 보이는 연석고 분말과 심한 염증세포의 침윤이 관찰되었다(Fig. 1).

2) 3주 소견

모든 군에서 다소의 염증 소견은 존재하였지만 1주에 비해 현저히 감소되었다. E군을 제외하고는 모든 실험 군에서 다핵거대세포가 존재하였으며 A, B군에서는 기존 골과의 변연부에서 골아세포의 활성화가 활발하였고 기존 골에서 형성된 신생 골주에 매식분말과의 직접적인 골성 융합이 나타났고 기존 골의 일부에서는 파골 세포에 의한 흡수 소견이 부분적으로 관찰되었다. 모든 실험 군은 섬유성 결체조직에 의해 둘러 쌓여 있었다(Fig. 2).

3) 5주 소견

모든 실험 군에서 염증 및 조직 부종 소견이



Fig. 1. Photomicrograph discloses toothhash particles and inflammatory cell infiltrations(C group, 1 weeks, H-E stain, $\times 40$).

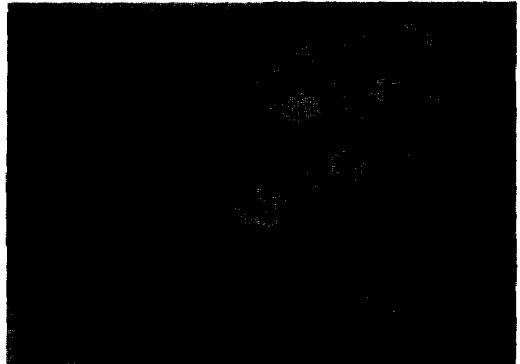


Fig. 2. Photomicrograph discloses the direct union between toothhash and newly formed bone(Arrow). Inflammatory cells are markedly decreased(B group, 3 week, H-E stain, $\times 40$).

거의 소실되었으나 E군은 염증 반응이 여전히 잔존하고 있었다. A, B, C, D군은 다핵거대세포가 존재하였으며 주위 골과의 직접적인 골성 융합이 점차 증가되는 양상을 보였으나 E군은 단순히 섬유성 결체조직에 의해서만 피막되어 있었다. 한편 A, B, C군에서는 부분적으로 파골 세포에 의한 골 흡수 소견이 관찰되었다(Fig. 3).

4) 8주 소견

모든 실험 군에서 염증 반응은 존재하지 않았다. E군을 제외한 모든 실험 군은 섬유성



Fig. 3. Implanted site are surrounded by fibrous connective capsule. Newly formed bone ingrowth are noted and inflammatory cells are disappeared(E group, 5 week, H-E stain, $\times 40$).



Fig. 4. Photomicrograph discloses the phagocytosis of implanted particles by multinucleated giant cells(Arrow) (A group, 8 week, H-E stain, $\times 400$).

결체조직에 의한 피막화와 주위 골과의 직접적인 골성 융합이 현저히 증가하고 있었으며 치아회분말에 부착된 다핵거대세포에 의해 매식체가 흡수되는 소견이 관찰되었다. A, B군에서는 파골 세포에 의한 부분적 골 흡수 소견이 나타났다(Fig. 4).

5) 12주 소견

E군을 제외한 A, B, C, D 실험 군은 주위 골과의 골성 융합이 상당히 증가되었으며 섬유성 결체조직에 의한 피막화도 현저히 증가

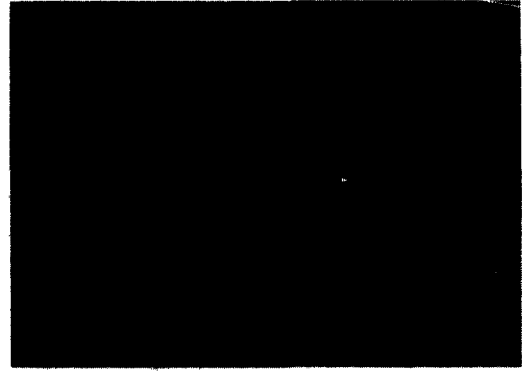


Fig. 5. Photomicrograph showing the new bone formation around the defect(A group, 12 week, H-E stain, $\times 100$).

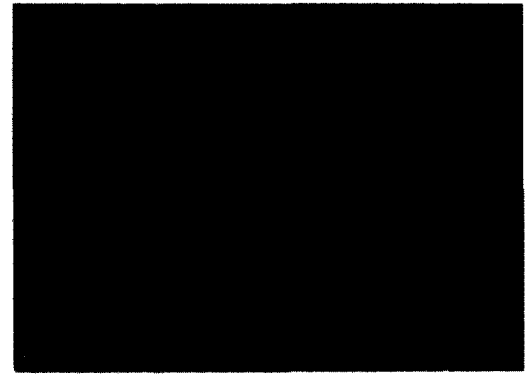


Fig. 6. Photomicrograph showing the active new bone formation around the defect. The size of implanted particles are decreased significantly(B group, 12 week, H-E stain, $\times 100$).

되었다. 한편 다핵거대세포의 침윤은 여전히 잔존하고 있었으나 파골 세포의 활동은 관찰되지 않았다. E군에서는 매식된 연석고들의 잔재를 관찰하기 어려웠고 A, B, C, D군에 비해 신생골 형성이 상당히 감소되어 있었으며 다핵거대세포의 침윤은 보이지 않았다(Fig. 5, 6, 7, 8, 9).

2. 조직형태계측학적 분석(Table 1)

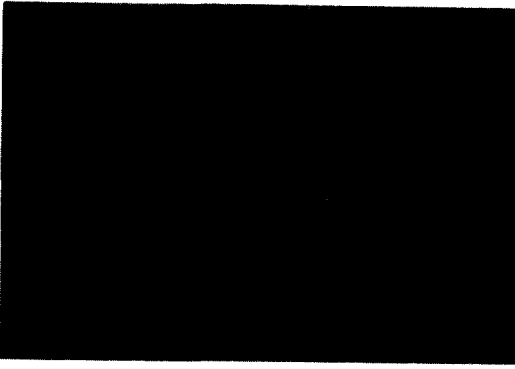


Fig. 7. Photomicrograph discloses the direct union between the toothbrush and newly formed bone(C group, 12 week, H-E stain, $\times 100$).

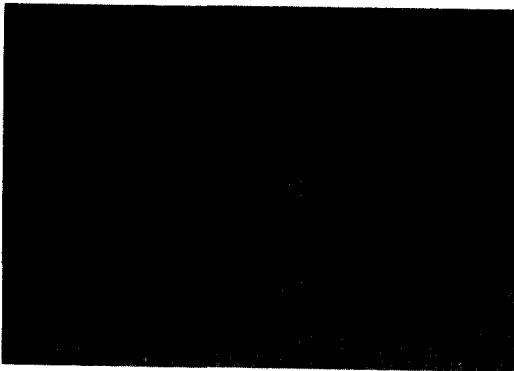


Fig. 8. Photomicrograph discloses the defect encapsulated by connective tissue and newly formed bone(D group, 12 week, H-E stain, $\times 40$).

Table 1. Kruskal-Wallis 1-way ANOVA test

Mean rank	n	Group
10.71	7	A
17.43	7	B
15.86	7	C
14.00	7	D

Chi-sq=2.6040

Significance=0.4568 > 0.05



Fig. 9. The amount of new bone formation is less than that of A, B, C, D groups(E group, 12 week, H-E stain, $\times 40$).

12주 실험군에서 매식분말과 신생골의 직접 유합부의 평균 길이를 측정한 결과 A군에서는 10.71um, B군 17.43um, C군 15.86um, D군 14.00um이었다. 그러나 Kruskal-Wallis 1-way ANOVA 순위 검정 결과 각 실험군 간 순위의 차이는 통계학적으로 인정되지 않았다($P > 0.05$).

IV. 총괄 및 고안

선학들의 연구를 통해 Hydroxylapatite와 치과용 연석고는 생체친화성이 있으며 골 전도 능력이 있는 재료로 인정되었으며 경조직 결손의 수복을 위해 임상에서도 사용되기에 이르렀다. 한편 분말형 Hydroxylapatite의 매식은 유동성에 의해 정위치에 유지되지 않는 최대의 단점이 있다. 이를 해결하기 위해 부단한 노력이 시행되어 왔으나 분말을 완전히 정위치에 유지시키는 사실상 어려웠고, 시술 자체가 복잡하고 불안정하였다¹⁻⁷⁾. 따라서 매식할 분말과 어떠한 재료를 사전에 혼합하여 매식하면 경화되면서 적절한 초기 유지를 얻을 수 있다는 가정하에 치과용 도제 및 calcium sulfate hemihydrate의 이용이 시도되었다^{8,9,10,11,12)}. 저자 등은 이미 Hydroxylapatite와 beta-whitlockite가 주성분인 치아회분말과 calcium sulfate hemihydrate가 주성분인 치과용 연석고의 혼합매식술에 관한 실험적 및 임상적 연구를 시행하여

생체적합성 및 골전도 능력을 검증한 바 있다^{14, 15)}. 한편 석고를 Hydroxylapatite와 혼합 매식하면 매식 분말의 유지력을 현저히 향상시키고 주변 골로부터 골 침투력이 상당히 증가된다는 보고가 있었으며⁹⁾ Robert 등¹⁰⁾은 calcium sulfate hemihydrate와 dextran bead를 혼합 매식한 경우에 치유가 우수하였다고 보고하였다. 한편 Hydroxylapatite의 부족한 골 생성 및 골 유도 능력을 향상시키기 위하여 자가골 혹은 탈회냉동건조골을 혼합 매식하는 술식에 대한 실험적 연구 및 임상적 연구가 보고되기도 하였다. 그러나 저자 등의 연구 목적은 가급적 자가골의 사용을 피하고 가격이 저렴하면서 시중에서 구하기가 쉽고 가공이 용이한 생체재료를 개발하는데 목적이 있기 때문에 자가골이나 탈회냉동건조골 등의 혼합 매식은 고려하지 않았으며 Hydroxylapatite가 주성분인 치아회분말과 치과용 연석고의 적절한 혼합비율을 얻고자 본 연구를 시행하게 되었다. 적절한 혼합 비율을 얻고자 노력한 실험적 연구는 드문 실정이었지만 정 등¹⁶⁾은 골 조직 분말과 Hydroxylapatite 분말의 혼합비가 1:1인 경우가 가장 양호한 치유를 보였다고 하였으며 Talib 등⁹⁾은 Hydroxylapatite 분말과 calcium sulfate를 13:7로 혼합 매식한 실험 군에서 신생 골 침투가 가장 우수하였고 신생 골이 매식 분말과 직접 유합되는 소견을 보고하였으며 윤 등¹⁷⁾은 치아회분말과 치과용 도제를 6:4의 비율로 혼합 매식하면 매식 분말의 유지가 적절히 이루어지면서 물리적 성상 또한 상당히 우수하다고 실험적으로 보고한 바 있다. 본 교실에서 시행한 연구에서는 치아회분말 단독매식군, 치아회분말과 치과용 연석고를 무게비 2:1, 3:1, 4:1로 시행한 경우에 조직병리학적으로 상호간에 큰 차이는 없었으나 치과용 연석고 단독매식군에 비해서는 현저하게 양호한 골 전도 현상을 관찰할 수 있었으며 치아회분말의 유동성을 감소시킬 수 있었다. 치과용 연석고 단독매식군에서도 부분적인 골 전도 현상은 관찰되었으나 모든 실험군 중에서 가장 불량한 치유를 보였다. 형성된 신생 골과 매식분말과의 직접 골 유합을 조직형태측학적으로 측정하여

분석한 결과 치아회분말과 석고를 무게비 2:1로 혼합 매식한 실험 군에서 가장 양호한 골 유합이 이루어졌으나 통계학적으로 유의성 있는 차이는 인정되지 않았다.

V. 결 론

저자 등은 치아회분말과 치과용 연석고의 가장 이상적인 혼합비율을 결정하고자 치아회분말 단독매식군(Group A), 치아회분말과 치과용 연석고를 무게비 2:1 혼합군(Group B) 3:1(Group C) 4:1(Group D) 석고 단독매식군(Group E)으로 분류하여 백서의 두개부에 매식한 후 조직병리학적 및 조직형태측학적으로 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 임파세포 및 혈장세포 침윤에 의한 염증반응은 모든 실험 군에서 시간이 경과하면서 완전히 소실되었다.
2. 실험 12주째 E군을 제외한 모든 실험 군에서 기존 골로부터의 신생 골 형성에 의한 결손부 수복과 매식분말과의 직접 골 유합이 관찰되었다.
3. E군에서는 12주째 매식체의 잔재는 관찰되지 않았으며 신생 골에 의한 수복은 타 실험 군에 비해 현저히 감소되어 있었다.
4. 조직형태측학적 분석을 통한 매식분말과 신생 골과의 직접 골 유합은 B군에서 가장 많이 이루어졌고, C, D, A 순이었지만 통계학적인 유의한 차이는 인정되지 않았다.

참고문헌

1. El Deeb ME : Comparison of three methods of stabilization of particulate hydroxyapatite for augmentation of the mandibular ridge. J Oral Maxillofac Surg. 46 : 758, 1988.
2. Kent JN, Finger IM, Quinn JH et al : Hydroxyapatite alveolar ridge reconstruction : Clinical experiences, complications and technical modifications. J Oral Maxillofac

- Surg. 44 : 37, 1985.
3. Propper RH : A technique for controlled ridges. J Oral Maxillofac Surg. 43 : 469, 1985.
 4. Lew D, Clark R, Shahbazian T : Use of a soft tissue expander in alveolar ridge augmentation : A preliminary report. J Oral Maxillofac Surg. 44 : 516, 1986.
 5. Wittkamf ARM : Fibrin glue as cement for HA-granules. J Cranio.-Max.-Fac. Surg. 17 : 179, 1989.
 6. Harvey WK, Pincock JL, Matukas et al : Evaluation of a subcutaneously implanted hydroxylapatite-Avitene mixture in rabbits. J Oral Maxillofac Surg. 43 : 277, 1985.
 7. Rawlings CE, Wilkinns RH, Hanker JS et al : Evaluation in cats of a new material for cranioplasty : A composite of plaster of Paris and hydroxylapatite. J Neurosurg. 69 : 269, 1988.
 8. 윤창근, 조영학 : 치아회분과 도재복합 매식체에 관한 광학현미경 및 주사전자현미경적 연구. 대한치과보철학회지. 22 : 33, 1984.
 9. Talib A, Najjar et al : Enhanced osseointegration of hydroxyapatite implant material. Oral Surg. 71 : 9, 1991.
 10. Robert V. Syndres et al : Enhancement of repair in experimental calvarial bone defects using calcium sulfate and dextran beads. J Oral Maxillofac Surg. 51 : 517, 1993.
 11. Bell WH : Resorption characteristics of bone and plaster. J Dent Res. 39 : 727, 1960.
 12. Beeson WH : Plaster of Paris as an alloplastic implant in the frontal sinus. Arch Otolaryngol. 107 : 664, 1981.
 13. 김영균, 여환호 등 : 성견에서 치아회분말의 하악골체부 매식시 치유과정에 관한 실험적 연구. 대한악안면성형재건외과학회지. 15 : 129, 1993.
 14. 김영균, 여환호 등 : 치아회분말 및 치과용 연석고의 혼합매식술에 관한 실험적 연구. 대한악안면성형재건외과학회지. 16 : 22, 1994.
 15. 김영균, 여환호 : 치아회분말과 치과용 연석고의 혼합매식술 : 임상적 적용. 대한악안면성형재건외과학회지. 16 : 130, 1994.
 16. 정기돈, 김태규, 양동규 : 가토에서 골 조직 분말과 Hydroxylapatite 분말의 혼합비에 따른 골결손부위 재생에 관하여. 대한구강악안면임프란트학회지. 1(1) : 59, 1995.
 17. 윤창근, 조영학 : 치아회분과 도재복합 매식체에 관한 광학현미경 및 주사전자현미경적 연구. 대한치과보철학회지. 22 : 33, 1984.