성견 1면 치조골 결손부에서 Emdogain®과 Emdogain® 및 특수 제조된 Calcium Sulfate Paste 혼합물이 치주조직 치유에 미치는 영향

최성호[1] · 김창성[1] · 서종진[1] · 김현영[1] · 김정혜[2] · 조규성[1] · 김종관[1]

[1]연세대학교 치과대학 치주과학교실, 치주조직 재생 연구소
[2]성균관 대학교 의과대학, 삼성 서울 병원, 치과진료부 치주과

I. 서론

치주질환으로 상실된 치주조직을 회복하기 위하여 다양한 재생술식이 사용되고 있다.[1,2,3) 재생술식은 기존 치주술식의 단점인 긴부착상피로의 치유를 억제하고 치아에 신생결합조직의 부착과 더 나가서는 치주조직의 완전한 재생을 목적으로 하여 생겨났으며, 이러한 목적을 이루기 위하여 다양한 형태의 골이식 재료, 차단막을 이용한 치주조직유도재생술(Guided Tissue Regeneration ; GTR), 치근면 처치등의 방법이 소개되어왔으며, 최근에는 다양한 종류의 성장인자, Emdogain®의 처치법 등이 연구되고 있다.

Calcium Sulfate의 치주 치료 영역에서의 사용은 약 30 - 40년전부터 사용되어왔으며, Peltier,[4)] Calhoun,[5)] Bell[6)] 등의 연구에 의하여 생체적합성이 우수하며, 동물실험에서 3 - 6주 사이에 흡수되어 신생골 형성에 일익을 담당한다고 보고되었다.

Shaffer와 App[7)] 등은 그들의 연구결과 Calcium Sulfate가 골조직 형성에 직접 관여하지는 않는다고 보고하였다. 하지만, 1988년 Yamazaki[8)]가 쥐의 대퇴근에서 골 형성 단백질(Bone Morphogenetic Protein; BMP)의 운반체(Carrier)로서 Calcium Sulfate의 생체내 사용 가능성을 발표한 이래 Sottosanti는 탈회냉동건조골(Demineralized Freeze Dried Bone; DFDB)와 함께 이식하면 치은상피의 치근면으로의 이주와 결합조직의 유입을 막을 수 있으며, BMP의 골유도작용과 Calcium Sulfate의 공간확보와 창상의 안정에 기여하는 작용이 복합되어 DFDB의 골유도작용도 촉진시킬 수 있다고 발표한바 있다[9 - 11)] .

본 교실에서는 이점을 확인하기위해 Calcium Sulfate에 대한 일련의 실험들을 진행하여 치주조직 재생에 대한 효과를 알아보았고 성견 치아 주위로 형성된 1, 2, 3면 골내낭에서 Medical Grade Calcium Sulfate가 우수한 치조골 형성과 백악질 형성등의 치주조직재생을 이룰 수 있다는 것을 확인한 바 있으며[12,13)] Medical Grade Calcium Sulfate를 다른 이식 재료와 혼합이식하였을 때에도 치조골 탐침결과 우수한 치조골의 재생을 확인할 수 있었다[14 - 16)].

치주 조직 재생을 위한 Emdogain®의 사용은 생물학적인 접근에의해 최근에 소개된 치료 방법중 하나이다. Emdogain®에 의한 치료 원리의 근거는 치아의 초기 발생 단계를 이해함으

교신저자: 김종관 서울시서대문구 신촌동 134번지연세대학교 치과대학치주과학교실 우편번호 120 - 752

로써 이해될 수 있다. 치아 발생 단계에서Hertwig 상피근초(Hertwig's root sheath; HERS)의 세포들에 의하여 분비되는법랑 기질 단백질(Enamel matrix protein; EMP)은 무세포성 백악질의 형성을 자극하는 중요한 자극 인자로 알려져 있다[17-20]. 치아발생과정 중 치근의 발생과정을 보면, 외측 법랑상피(outer enamel epithelium)와 내측 법랑상피(inner enamel epithelium)가 치아기(dental organ)의 치경륜(cervical loop)으로부터 증식되어 HERS를 형성하고 이 HERS의 내측 상피세포들이 치아유두(dental papilla)를 더욱더 둘러싸게 되면서 이들은 EMP를 분비해서 치아유두의 가장자리에 있는 세포들이 조상아세포로 분화하도록 유도하는 것이다[21]. 즉, 이 조상아세포들이 치근의 상아질을 형성하게 되는 것이다. HERS는 치근형성을 유도 하고 난 후 분리되어 치아주위에서 천공이 있는 망상조직을 형성하게 되며 주위의 치아낭세포들이 이 사이로 통과해서 새로 형성된 치근면에 부착하도록 한다.[22] 여기서 이 치아낭세포들은 백악아세포로 분화해서 유기기질을 침착시켜서 무세포성 백악질을 형성하게 된다[23-26]. 이와 같이 치근의 상아질과 백악질이 형성되기 위해서는 HERS의 상피세포가 각각의 간엽세포가 들어있는 치아유두와 치아낭에 영향을 주어서 분화를 유도해야만 한다[27-29]. 이러한 상피-간엽 상호작용은 상피세포들이 화학유인물질을 분비해서, 이와 관련된 수용체가 cytokine과 결합하여 세포내 신호를 전달함으로써 간엽세포의 분화를 유도하게 되는 것으로 보고된다[30-32,]. 즉 이러한 상피-간엽 상호작용은 치아의 치주 인대와 치조골 발생에 있어 필수 요건이 되는 것이다.

이러한 상피-간엽 상호작용에는 EMP와 같은 화학유인물질이 작용할 것이라는 가정하에, 1997년 Hammarstr m[33]은 EMP의 주성분인 amelogenin이 치근형성과정에서 나타나는 것을 면역조직화학적방법에 의해 관찰하였고, 또한 Hammarstr m등[34]은 돼지의 법랑기질을 원숭이의 치근면에 실험적으로 형성한 열개형 골결손부에 적용시 치근면에 단단히 부착된 무세포성 백악질이 형성되었다고 보고하였다. 또한, 1997년 오등[35]은 1면 골결손부에서 법랑기질 유도체의 이식은 신생 백악질형성에 우수한 효과를 보였으며, 접합상피의 근단이동억제와 신생골형성에도 약간 증진된 효과가 있는 것으로 보고하였다. 즉, EMP(Emdogain®)를 상실된 치주 조직을 재생시킬 목적으로 임상에서 사용하였을 경우, 적용된 치주 조직 부위에서 원래의 치주 조직 발생 단계를 재현해낼 수 있고 이에따라 우수한 치주 조직 재생이 가능하다는 것을 기대할 수 있는 것이다.

이에 본 연구에서는 특수 제조된 Calcium Sulfate와 Emdogain?을 혼합 이식하였을 경우 Emdogain®의 신생 백악질 형성에 의한 치주조직 재생효과와 특수 제조된 Calcium Sulfate의 공간확보와 창상의 안정에 기여하는 작용이 치주조직 재생에 상승 작용을 나타내는 것으로 사료되어 성견의 1면 골내낭을 특수 제조된 Calcium Sulfate와 Emdogain?을 혼합 처치한 경우와 Emdogain®을 단독으로 처치한 경우의 치주조직 치유에 미치는 영향을 비교 분석한 결과 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

생후 1년 이상된 체중 15kg내외의 성견으로 성별 관계없이 4마리를 사용하였으며 실험 시작된 치주조직에 염증이 없는 건강한 상태였다.

실험재료는 법랑기질 유도체(Enamel Matrix Derivative ; EMD, EMDOGAIN®*)와 실험용으로 특수 제작된 paste형태의 Calcium

Sulfate를 사용하였다. 특수 제작된 paste형태의 Calcium Sulfate의 성분은 Calcium Sulfate 51%, Zincoxide 30%, Polyvinyl - acetate 13%, Poly - t - Butylacrylate 5%, Butylac - etate 1% Polyethylene glycol 등 이었다.

2. 연구방법

(1) 실험군 설정

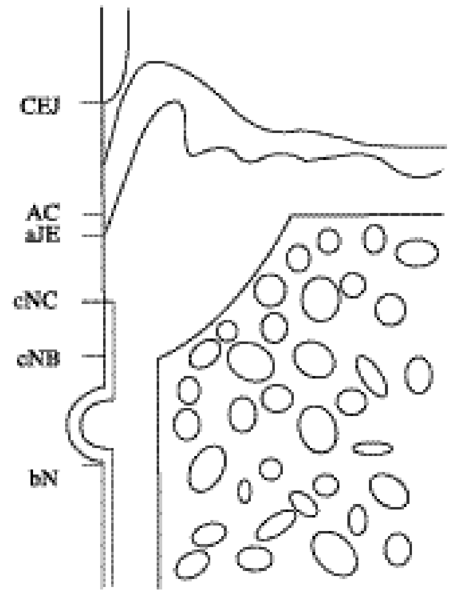
치은박리 수술만(Gingival Flap Surgery. GFS) 시행한 부위를 대조군으로, 치은박리 수술 후 Emdogain® 만을 처치한 부위를 실험 I군으로, 치은박리 수술 후 Emdogain®과 Paste형의 Calcium Sulfate를 혼합 처치한 부위를 실험군 II군으로 설정하였다.

(2) 치조골 결손부 형성 및 외과적 처치

하악 좌우 제3소구치를 발거하고 2달간 자연치유되기를 기다렸다. 실험대상 성견을 Pen - tobarbital** 정맥 주사 마취하에 수술부위에 치과용 침윤 마취한 후 수술기간중에 lactated ringers를 혈관주사(IV) 하였다.

협.설 측 판막을 형성, 거상 한후 제 2 소구치의 원심 및 제 4소구치의 근심면에 치조골 상방으로부터 4mm깊이 4mm 넓이의 1면 골내낭을 외과적으로 형성하였다.

세심한 치근활택술 후 골내낭 기저부의 치근표면에 ¼round bur로 참고 표시(reference notch)를 하였다. 각 실험군 별로 실험 재료 이식 및 치료가 끝난 후 치은 판막을 봉합하였고 봉합사는 7일후 제거하였으며 2% chlorhexi - dine# 양치액을 술후 육안적 창상치유가 완료될 때까지 하였으며 soft diet를 시행하였다. 수술 후 8주 째에 실험 동물을 희생시키고 실험부위를 적출하였다.



CEJ : 백악법랑경계 AC : 치조정
bN : reference notch aJE : 접합상피하단
cNC : 신생백악질 상단 cNB : 신생골상단
NBH : 신생골형성높이 NC : 백악질형성량
CTA : 결합조직 유착 EG : 접합상피 근단이

Figure 1. A schematic diagram depicting the landmarks and the parameters used in histomorphometric analysis

(3) 조직학적 관찰

실험동물을 Sodium pentobarbital를 정맥 주사하여 8주후 희생시킨 후 실험부위의 치아를 포함한 Block section하여 생리식염수로 깨끗이 씻은 후 10% formalin에 10일간 고정하였다. 그후 물로 씻은 후 5% formic acid로 2주간 탈회시킨 후 paraffin에 포매한 후 5㎛두께로 근원심 방향으로 약 70㎛간격으로 Serial section하여 매 12 - 15번째 section을 선택하여 1 block당 4개씩 만들어 Hematoxylin - Eosin 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

관찰사항은 접합상피의 근단이동, 염증세포의 침윤, 이식재의 흡수상태, 신생백악질과 신

** : Entobar[R], sodium pentobarbital 100 mg/2ml, 한림제약, Seoul, Korea
# : Hexamedin 2%, 부광약품, Seoul, Korea

생골의 형성, 신생골과 백악질 사이의 치주인대 조직 상태 등이었다.

(4) 조직계측학적 분석

백악법랑경계(CEJ)와 치은변연(GM) 및 reference notch(N)를 참고점으로 잡고 CEJ와 접합상피(J epithelium)의 근단측 최하단 까지의 길이를 접합상피의 길이로 하였으며 접합상피 하단에서 신생백악질의 뚜렷한 형성없이 결합조직섬유가 치근에 부착되어 있는 부분의 길이를 결합조직 유착으로(C-T adhesion), 그리고 reference notch로부터 결합조직 유착부위까지의 신생 백악질의 형성으로 생각되는 부위의 길이를 측정하였고(Cementum Regeneration), reference notch에서부터 신생골 형성 상단까지의 길이를 신생골 형성(Bone Regeneration)으로 하여 계측하였다(Figure 1).

계측된 길이를 각 군별로 4개의 Block의 평균값을 산정하여 백분율로 환산하여 대조군과 실험 I, II군을 비교하였다.

III. 연구결과

1. 조직학적 관찰

(1) 대조군

전체적으로 확연한 염증세포의 침윤이 관찰되지 않았고 접합상피 하방으로 치아 장축과 평행하게 배열된 결합조직 부착이 관찰되었다. 신생골과 신생백악질 사이의 치주인대 섬유는 대부분 불규칙하거나 치근에 평행하게 배열된 양상을 보였고, 결합조직내 염증세포의 침윤은 없거나 미약하였다. Notch 상방으로 약간의 신생백악질이 치면을 따라 얇게 띠모양으로 형성되어 있었으며, 신생골은 거의 형성되지 않았다(사진 부도 1, 2).

(2) 실험 I 군(EMD 이식군)

결합조직내 염증세포의 침윤은 없거나 미약하였으며, 접합상피의 근단이동은 억제된 양상을 보였다. 신생골과 신생백악질 사이의 치주인대 섬유는 대부분 불규칙하거나 치근에 수직으로 배열되어 있었으며, Notch 상방으로 치근면의 굴곡을 따라 많은 양의 신생백악질이 접합상피 하방 근처까지 형성되어 있었는데, 기존 백악질과 연속되는 notch 기저부의 신생백악질은 두꺼운 양상을 보였고 상단으로 갈수록 얇

Table I. Histomorphometric analysis of periodontal repair in 1-wall intrabony defects following surgical implantation EMDOGAIN®(EMD) or EMDOGAIN®/Calcium Sulfate paste(EMD+CS) and gingival flap surgery(GFS).

	GFS(N=3)	EMD(N=4)	EMD+CS(N=3)
Defect Height	4.48±0.07	4.66±0.37	5.03±0.75
J epithelium	0.41±0.01 (9.05±0.24)	0.42±0.08 (9.12±2.28)	0.50±0.13 (10.08±2.81)
CT adhesion	0.28±0.02 (6.15±0.28)	0.13±0.08 (2.76±1.57)	0.19±0.02 (3.79±0.30)
Cementum Reg.	3.80±0.06 (84.80±0.33)	4.12±0.43 (88.12±2.31)	4.34±0.71 (86.13±3.08)
Bone Reg.	1.43±0.03 (32.37±1.22)	1.53±0.47 (33.28±12.62)	2.25±1.35 (43.52±25.33)

mean(mm)±S.D., ( ); mean (%)±S.D.

아졌다. 신생치조골은 기존치조골 상방으로 신생백악질을 따라서 많은 양이 형성되어 있었으며 치관쪽으로 갈수록 얇아지는 양상을 보였다. 신생골 표면으로 골세포들이 배열되어 있어서 골형성이 활발히 일어났음을 짐작할 수 있었다. 골유착은 관찰되지 않았다(사진 부도 3, 4).

(3) 실험 II군(EMD + Calcium Sulfate 이식군)

접합 상피의 근단 이동, 결합조직 유착, 신생골 형성 그리고 신생백악질의 형성 양상은 실험 I군과 비슷한 양상을 보였으나 그 양에서 약간의 증가가 있었다. 결합 조직내 염증세포의 침윤은 없거나 미약하였다. 일부 표본에서 Calcium Sulfate의 흡수 과정에서 비롯된 것으로 사료되는 염증세포의 군집이 관찰되었으나 매우 국소적으로 제한되어있고 기타 부위는 건강한 조직으로 관찰되었다(사진 부도 5 ,6 ,7, 8).

2. 조직계측학적 관찰

(1) 접합 상피의 길이

접합 상피는 대조군, 실험 I군, 실험 II군에서 각각 0.41±0.01mm, 0.42±0.08mm , 0.50±0.13mm로 나타났다(Table I).

(2) 신생골 형성의 길이

신생골 형성은 대조군, 실험 I군, 실험 II군에서 각각 1.43±0.03mm, 1.53±0.47mm, 2.25±1.35mm로 나타났다(Table I).

(3) 신생백악질 형성의 길이

신생백악질 형성은 대조군, 실험 I군, 실험 II군에서 각각 3.80±0.06mm, 4.12±0.43mm, 4.34±0.71mm로 나타났다(Table I).

(4) 결합조직 유착의 길이

결합조직 유착은 대조군, 실험 I군, 실험 II군에서 각각 0.28±0.02 mm, 0.13±0.08mm, 0.19±0.02 mm로 나타났다(Table I).

IV. 총괄 및 고찰

치주조직 재생을 위한 여러 가지 방법 중 차단막과 골이식술의 사용이 효과적인 방법으로 알려져 있으나 이러한 차단막과 골이식술에 의한 치주재생 방법은 물리적인 유도방법에 의하여 치유에 관여하는 세포의 선택적인 이주를 목표로 하는 것으로, 능동적으로 원하는 세포들의 직접적인 이주, 증식, 기질 합성 등을 촉진할 수는 없었다[36-38]. 진정한 치주조직의 재생을 위해서는 치주인대세포, 조골세포 그리고 백악아 세포의 이주와 함께 이들 세포들의 증식 및 기질합성이 필요하며, 특히, 초기단계에서 백악아 세포에 의한 백악질의 형성은 치주조직 재생에 중요한 역할을 하게된다[39]. 백악질은 세포의 유무와 섬유의 기원에따라 여러 종류로 구별될 수 있다. 이 중에서 acelluar extrinsic fiber cementum이 중요하게 생각되는 것은 이것이 치주조직 재생단계에서 치주인대에 의한 치조골과 치아의 연결에 있어 주 역할을 하기 때문이다. 따라서 치주조직 재생에 있어 이러한 종류의 백악질의 재생은 치료의 목적이 될 수 있는 것이다.

HERS의 상피 세포들은 치아유두와 치아낭에 영향을 주어서 이들 내부에 존재하는 간엽세포들이 각각 조상아세포와 백악아세포로 분화하도록 유도하여 치근의 상아질과 백악질을 형성하도록 유도하는 것으로 보고된다[36-38]. 이러한 상피-간엽세포의 상호작용에는 화학 유인물질이 관여하는데, 이들 화학 유인물질은 세포외 기질이나 내측 기저막에서 분비되고 이와 관련된 수용체와 결합함으로써 간엽세포의 분화를 유도하게 된다[21]. 이러한 화학 유인물질에 대한 연구에서 Inoue등[40]은 탈회상아기질이 연골형성을 유도했다고 보고했으며, Cho등[41]은 화학유인물질이 초기 상아질형성과정에서 분비되어 전구백악아세포의 분화와 이주를 야기한다고 보고하였다. 1997년

Hammarstr m[34)]은 치아낭의 간엽세포가 법랑기질에 노출되면 무세포성 경조직이 법랑질 표면에 형성되는 것을 관찰했고, 법랑기질의 주성분인 amelogenin이 치근형성과정에서 나타난다는 것을 보고하였으며, 또한 원숭이의 협측 열개형 골결손부에 Emdogain?를 적용하였을 경우 신생골 형성과 함께 치근 상아질면에 단단히 부착된 무세포성 백악질이 형성된다고 보고하였다.

본 연구에서 얻어진 8주 후의 조직 소견을 분석하면 신생 백악질 형성이 실험군에서 대조군에 비해 보다 높게 나타났다. 또한, Notch 상방으로 형성된 신생 백악질은 무세포성 백악질의 조직 소견이였고 형성된 백악질로는 섬유가 수직 또는 사선방향으로 함입되는 양상을 관찰할 수 있었다. 반면 신생 백악질 형성이 없는 결합조직 유착부위에서 결합조직 섬유는 치아에 평행하게 주행하는 소견이었다. 이와 같이 증진된 신생백악질 형성의 소견들은 EMD가 조직 치유과정에서 주로 백악아세포의 분화 및 이주를 집중적으로 촉진시켜서 백악질의 형성을 유도하였기 때문인 것으로 사료된다. 이러한 결과들이 평균값을 비교할 때 실험 I군보다 실험II군에서 보다 높게 나타난 것은 혼합 처치된 Calcium Sulfate paste가 초기 치유기간 동안 형성된 혈병을 안정되게 보호하고 EMD가 조직재생에 효과적인 작용을 할 수 있게하는 운반체의 역할을 수행하였기 때문인 것으로 고려된다.

Gestrelius등[42)]은 EMD를 Propylene glycol alginate에 용해시켜서 적용시킨 첫 주동안 섬유아세포 양세포의 재군집을 촉진한다고 보고하였고, 또한, Emdogain®은 in vitro에서 치주인대 세포의 증식을 돕고, 치주인대 세포에 의한 단백질 합성량을 증가시킴으로써 조직재생부위에서 세포의 positive matrix로 작용한다고 주장하였다.

Emdogain®을 조직에 이식하기 위해 본 연구의 실험 I군에서 사용된 매개물질은 Propylene glycol alginate였다. Hammarstr m등[34)]은 Emdogain® 적용시 매개물질로 Propylene glycol alginate를 사용해본 결과, 많은 양의 신생백악질과 신생골 형성을 유도됨을 보고하였고, Gestrelius등[42)]도 Propylene glycol alginate가 혐수성인 Emdogain®의 용해를 위해 가장 적합한 매개물질이라고 보고했다.

효과적인 치주 조직 재생을 위해서는 Wikesj 가 언급하였듯이 의도된 부위에서 치주조직에 의해 혈병이 형성되고 초기 치유 기간동안 혈병의 안정된 보호가 중요하다[43,44)]. 본 교실에서 지난 수년에 걸친 연구결과로 Calcium Sulfate는 GTR이론에 의한 흡수성 차단막의 기능을 수행할 수 있고 창상 치유기간동안 창상 부위의 안정화를 도모함으로써 1, 2, 3wall 골내낭에서 치주조직 재생에 효과가 있음을 보고 한 바 있다[12-16)]. 그러나, 기존의 Calcium Sulfate는 경화직후 매우 단단하고 깨지기 쉬운 성질을 갖고 있어서 체내에서 깨져버림으로서 수술부위에 오랫동안 유지되기가 힘든 문제점을 가지고 있다. 이러한 단점을 보강하기 위하여 Calcium Sulfate에 Zincoxide, Polyvinyl-acetate, Polybutylacrylate, Polyethylene glycol, Butylacetate 등 재료를 첨가하여 Paste형태로 만들었으며, 김[45)]은 새로운 특수제조된 Paste형태의 Calcium Sulfate는 체내 창상부위에서 상당시간 안정된 형태로 유지되므로 치유기간동안 수술부위를 보호하고 수술부위의 공간 확보에도 효과적으로 작용하며 신생 백악질과 신생골 형성에도 보조적 역할을 할 수 있다고 보고하였다.

Propylene glycol alginate을 매개물질로 한 Emdogain®의 이식은 3면 골내낭 같은수직골결손부나 1,2급 분지부병소에서는 적용이 용이할 것으로 보이지만, 이것은 점도가 낮기 때문에 본 연구에서 사용된 1면 골결손부에서는 재료의 유지와 안정성에 상당한 어려움이 있을 것으로 생각되었고, 이러한 문제점을 보완하기

위한 방법으로 Emdogain®과 함께 공간 확보와 창상의 안정에 기여할 수 있는 Calcium sulfate paste를 혼합 처치한다면 Emdogain®을 단독으로 이식했을 때보다 우수한 치주조직 재생효과가 있을 것으로 사료되어 본 연구에서는 Emdogain®을 특수 제조된 Calcium sulfate paste를 함께 이식한 것을 실험 II군으로 설정하여 Emdogain® 단독 처치한 실험 I군과 비교 분석하였다.

실험 II군의 소견에서 특수 제조된 Calcium Sulfate 자체는 완전히 흡수되지 않은 상태로 결합조직이나 치조골내에서 존재하는 것이 관찰되었는데, 이는 이전의 연구에 사용된 보통의 Calcium Sulfate소견과는 다른 결과를 나타내고 있다. Bell[6]은 성견에서 이식 33일에 Calcium Sulfate가 완전 흡수된다고 보고한바 있으며, Kim[12,13] 등의 실험에서도 성견 1, 2, 3면 골내낭에 이식된후 8주에는 흡수가 이루어진다고 보고한 바 있다. 하지만 이번 연구에서 사용된 특수 제조된 Calcium Sulfate Paste는 8주에 완전히 흡수되지 않는 조직 소견을 보였다. 김[45]의 연구에서도 언급되었지만 이러한 소견은 Paste형태의 Calcium Sulfate 흡수 속도는 Calcium Sulfate의 첨가물에 따라 조절이 가능한 것으로 고려된다. 재료의 흡수 속도를 조절할 수 있다는 것이 중요한 것은 치주조직 재생의 일련의 순서에 합당하게 재료가 흡수됨으로써 신생골 및 신생백악질 재생에 Calcium Sulfate 재료가 긍정적인 영향을 미칠 수 있기 때문이다.

대조군과 실험 II군의 표본제작시 각 한 개씩 표본 제작의 실패로 통계학적인 유의성을 설명할 수는 없었지만 평균값을 비교하면 대조군과 실험 I군의 신생골 형성량은 각각 1.43±0.03mm, 1.53±0.47 mm으로 비슷한 생성량을 보였으며 실험 II군은2.25±1.35mm로 대조군과 실험 I군에 비하여 비교적 높은 수치를 나타내었다.

신생 백악질의 평균값은 대조군, 실험군 I군, 실험 II군에서 각각 3.80±0.06 mm, 4.12±0.43mm, 4.34±0.71mm로 실험 I, II군에서 대조군보다 많은 신생백악질 형성의 양상을 보였으며 실험군간의 평균값 비교에서는 실험 I군보다 실험 II군에서 보다 많은 신생백악질이 형성되는 양상을 보였다. 또한 모든 표본에서 신생백악질은 신생골보다 더 많이 치관쪽까지 형성되있으며 이것은 대조군보다 Emdogain? 을 이식한 실험 I군과 실험 II군에서 보다 뚜렷한 양상을 보였다. 이처럼 Emdogain®을 이식한 부위에서 신생골에 비해 신생백악질 형성이 더 두드러지게 나타난 것은 Emdogain®이 조직 치유 과정에서 백악아세포의 분화를 집중적으로 촉진시켜서 백악질의 형성을 유도하기 때문인 것으로 사료된다는 기존의 연구 결과들[33-35]과 일치하는 소견이다. 이러한 소견은 차단막이나 골이식술 혹은 성장인자를 이용한 다른 조직유도 재생연구에서 신생골과 신생백악질의 양이 비슷하게 개선된 효과를 보이는 것과는 대조적이다[26,27,46-51].

본 연구의 조직학적 관찰에서 신생골이 신생백악질 표면을 따라 치관쪽으로 성장하는 양상을 관찰할 수 있었으며, 이러한 소견으로 보아 신생백악질이 신생골과 치주인대 섬유의 생성을 더욱 촉진할 것으로 고려되지만, 이러한 기대되는 결과를 관찰하기 위해서는 실험 기간을 8주 이상으로 연장하여 관찰하는 것이 필요할 것으로 보인다.

Emdogain®의 치주조직 재생능력에 있어 Calcium Sulfate가 어떻게 영향을 미치는지는 본 연구에서 정확히 알 수 없으나 Calcium Sulfate는 자체의 치주조직 재생 능력 이외에 Emdogain®의 효과가 충분히 이루어질 수 있도록 초기 치유기간 동안 창상을 치은 결합조직으로부터 일정기간 보호하는 역할을 한다고 추측할 수 있고 두번째로는 Calcium Sulfate가 Carrier역할을 함으로써 Emdogain®이 창상 부위에서 보다 지속적으로 오랜 기간동안 작용을 나타낼 수 있게 한다고 사료된다.

V. 결론

치주조직의 재생을 연구하기 위하여 4마리의 성견에 인위적으로 4mm깊이, 4mm넓이의 1면 골내낭을 형성한 후 치은박리 수술만(Gingival Flap Surgery. GFS) 시행한 부위를 대조군으로, 치은박리 수술 후 Emdogain®만을 처치한 군을 실험 I군으로, 치은박리 수술 후 Emdogain®과 특수 제조된 Calcium Sulfate Paste를 혼합 처치한 부위를 실험군 II군으로 설정하였다.

시술후 8주간 치유시킨 후 실험동물을 희생하고 실험부위를 적출하여 조직계측학적 관찰 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 접합 상피는 대조군, 실험군 I군, 실험 II군에서 각각 0.41±0.01mm, 0.42±0.08mm, 0.50±0.13mm로 나타났다.
2. 신생골 형성은 대조군, 실험군 I군, 실험 II군에서 각각1.43±0.03mm, 1.53±0.47 mm, 2.25±1.35mm로 나타났다.
3. 신생 백악질 형성은 대조군, 실험군 I군, 실험 II군에서 각각 3.80±0.06 mm, 4.12±0.43mm, 4.34±0.71mm로 나타났다
4. 결합 조직 유착은 대조군, 실험군 I군, 실험 II군에서 각각 0.28±0.02mm, 0.13±0.08mm, 0.19±0.02 mm로 나타났다.

이상의 결과로 볼 때 Emdogain®은 치주조직 재생에 있어 신생골 및 신생 백악질 형성을 증진시킬 수 있으며, 또한 Emdogain®을 Calcium Sulfate Paste와 혼합 처치하였을 경우 Emdogain® 단독으로 이식하였을 경우보다 신생골 및 신생 백악질 형성이 증가되는 양상으로 보아, Calcium Sulfate Paste는 창상부위 안정과 공간 확보의 기능을 함으로써 Emdogain?의 치주재생 능력을 향상시킬 수 있는 것으로 사료 된다.

VI. 참고문헌

1. Melcher AH. : On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol 47:256 - 260, 1976.
2. Karring T, Nyman S, Gottlow J, Laurell L. : Development of the biological concept of guided tissue regeneration - animal and human studies. Periodontol 2000 1:26 - 35, 1993.
3. Haney JM, Nilv s RE, McMillan PJ, Wikesj UME.: Periodontal repair in dogs; Expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes support wound stabilization and enhance bone regeneration. J Periodontol 64:883 - 890, 1993.
4. Peltier LF.: The use of plaster of Paris to fill large defects in bone. Am J Surg 97:311 - 315, 1959.
5. Calhoun NR, Greene GW JR, Blackledge GT.: Effects of plaster of Paris implants on osteogenesis in the mandible of dogs. J Dent Res 42:1244, 1963.
6. Bell WH. : Resorption characteristics of bone and bone substitutes. Oral Surg 17:650 - 657, 1964.
7. Shaffer CD, App GR. : The use of plaster of Paris in treating infrabony periodontal defects in humans. J Periodontol 42:685 - 689, 1971.
8. Yamazaki A, Oida S, Akimoto Yi.: Response of mouse femoral muscle to an implant of a composete of bone morphogenetic protein and plaster of paris. Clin Orthop. 234:240 - 249, 1998.
9. Sottosanti JS.: Aesthetic extractions with calcium sulfate and the principles of

guided tissue regeneration. Pract Periodont Aesthetic Dent 5:61 - 69, 1993.
10. Sottosanti JS : Calcium sulfate; A biodegradable and biocompatible barrier for guided tissue regen
11. Sottosanti JS. : Calcium sulfate is a safe, resorbable barrier adjunct to implant surgical procedures. Dent Implantol Update 4:69 - 73, 1993.
12. Kim C - K, Chai J - K, Cho K - S, Chai S - H.: Effect of calcium sulfate on the healing of periodontal intrabony defects. International dental Journal 48(suppl1)330 - 337, 1998.
13. Kim C - K, Kim H - Y, Chai J - K, Cho K - S, Moon I - K, Choi S - H, Sottosanti JS, Wikesj UME.: Effect of calcium sulfate implant with calcium sulfate barrier on periodontal healing in 3 - wall intrabony defects in dogs. J Periodontol 69(9):982 - 988, 1998.
14. 이준호, 김소영, 최성호, 채중규, 조규성: Calcium Sulfate제재가 치주인대 세포에 미치는 영향. 대한치주과학회지 28(2):235 - 248, 1998.
15. 정유선, 김종관. : 성견 3면 골내낭에서 calcium sulfate를 calcium carbonate와 혼합이식 및 차단막으로 사용시 치주조직의 치유효과. 연세치대 논문집 Vol.10, 1995.
16. 최미령, 조규성, 채중규, 김종관. : 성견의 3면 골내낭에 calcium carbonate와 calcium sulfate의 혼합이식이 치주조직 치유에 미치는 영향. 대한치주과학회지 24:633 - 648, 1994.
17. Nyman S. Gottlow J. Karring T. Lindhe J. : The regenerative potential of the periodontal ligament, J. Clin. Periodontol., 9:257, 1982.
18. Gestrelius S. Andersson C. Lidstrom D. Hammarstrom L. Somerman M. : In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative, J. Clin. Periodontol., 24:685, 1997.
19. Avery, J. K. : Oral development and histology, 2nd ed. : 94, Thieme Medical Publishers, New York, 1994.
20. Ten Cate A. R. : Oral histology : development, structure, and function, 4th ed. : 58, Mosby - Year Book, St.louis, 1994.
21. Owens, P. D. A. : A light microscopic study of the development of the roots of premolar teeth in dogs, Arch. Oral Biol., 19:525, 1974.
22. Owens, P. D. A. : Ultrastructure of Hertwig's epithelial root sheath during early root development in premolar teeth in dogs, Arch. Oral Biol., 23:91, 1978.
23. Cho, M. I. & Garant, P. R. : Radiographic study of 〔^{3}H〕 Mannose utilizing during cementoblast differentiation, formation of acellular cementum,and development of periodontal ligament principal fibers, Anat. Rec., 223:209,1989.
24. Cho, M. I., Lin, W. L. Garant, P. R. : Occurence of epidermal growthfactor - binding sites during differentiation of cementoblasts and periodontal ligament fibroblasts of the young rat : A light and electron microscopic radioautographic study, Anat. Rec., 231:14, 1991.
25. Freeman, E. & Ten Cate, A. R. : Development of the periodontium : An electron microscopic study, J. Periodontol., 42:387, 1971.
26. Owens, P. D. A. : A light and electron microscopic study of the early

stages of root surface formation in molar teeth in the rat, Arch. Oral Biol., 24:901, 1979.

27. Slavkin, H. C. : Towards a cellular and molecular understanding of peri - odontics : cementogenesis revisited, J. Periodontol., 47:249, 1976.

28. D'Souza RN. Happonen RP. Ritter NM. Butler WT : Temporal and spatial patterns of transforming growth factor - β1 expression in developing rat molars, Arch. Oral Biol., 35:957, 1990.

29. Kollar, E. J. & Baird, G. R. : The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embry - onic mouse tooth germs, J. Embryol. Exp. Morph., 21:131, 1969.

30. Vaahtokari, A., Vainio, S. Thesleff, I. : Associations between transforming growth factor β1 RNA expression and epithelial - mesenchymal interactions during tooth morphogenesis, Develop - ment, 113:985, 1991.

31. Singer, S. J. : Intercellular com - munications and cell - cell adhesion, Sci - ence, 255:1671, 1991.

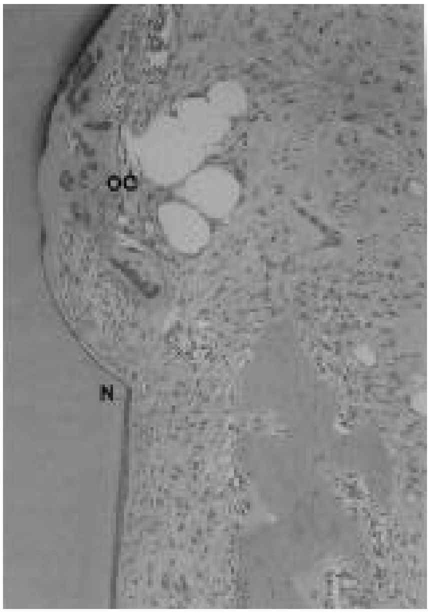
32. Thesleff, I., Partanen, A. M. Vaniso, S. : Epithelial - mesenchymal interactions in both morphogenesis : the roles of extracellular matrix, growth factors, and cell surface receptors, J. Craniofac. Genet. Dev. Biol., 11:229, 1991.

33. Hammarstr m, L. : Enamel matrix,

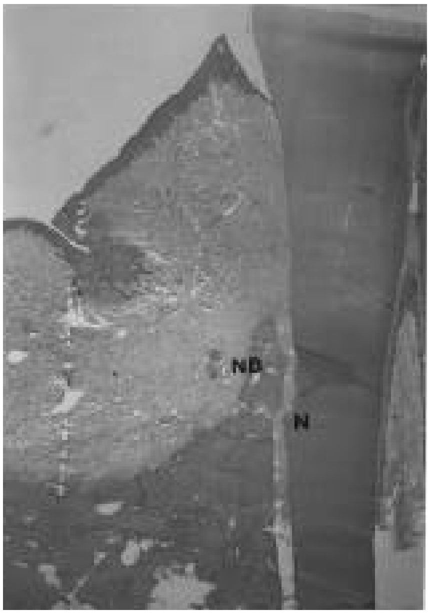
cementum development and regeneration, J. Clin. Periodontol., 24:658, 1997.
34. Hammarstr m, L., Heijl, L. Gestrelius, S. : Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins, J. Clin. Periodontol., 24:669, 1997.
35. 오제익, 채중규, 김종관, 조규성, 최성호: 성견의 1면 골결손부에서 법랑 기질 유도체가 치주 조직 치유에 미치는 영향, 대한치주과학회지 4:767 - 783, 1997.
36 Nyman S. Lindhe J. Karring T. Rylander H.. : New attachment following surgical treatment of human periodontal disease, J. Clin. Periodontol., 9:290, 1982.
37. Gottlow, J., Nyman, S. Lindhe, J. : New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration, J. Clin. Periodontol., 13:604, 1986.
38. Becker W. Becker BE. Mellonig J. Caffesse RG. Warrer K. Caton JG. : A prospective multi - center study evaluating periodontal regeneration for Class II furcation invasions and intrabony defects after treatment with a bioabsorbable barrier membrane: 1 - year results, J. Periodontol., 67:641, 1996.
39. Schroder H. : Biological problem of regenerative cementogenesis ; Synthesis and attachment of collagnnous matrices on growing established root surface. Int Rev Cytol ;142;1,1992
40. Inoue, T., Deporter, D. E. Melcher, A. H. : Induction of chondrogenesis in muscle, skin, bone marrow, and periodontal ligament by demineralized dentin and bone matrix in vivo and in vitro, J. Dent. Res., 65:12, 1986.
41. Cho, M. I. Garant, P. R. : Ultrastructural evidence of directed cell migration during initial cementoblast differentiation in root formation, J.Periodont. Res., 23:268, 1988.
42. Gestrelius S. Andersson C. Johansson AC. Persson E. Brodin A. Rydhag L. Hammarstrom L. : Formulation of enamel matrix derivative for surface coating, Kinetics and cell colonization, J. Clin. Periodontol., 24:678, 1997.
43. Wikesj UME, and Nilv s R. Periodontal repair in dogs: Effect of wound stabilization on healing. J Periodontol 61:719 - 724, 1990.
44. Wikesj UME,and Sigurdsson TJ.: Guided tissue regeneration: Is it a reproducible technique? J Parodontol Implantol Orale 13:243 - 257, 1994.
45. 김 종관 : 성견 1면 치조골 결손부에서 특수 제조된 Calcium sulfate paste가 치주조직 치유에 미치는 영향. 대한치주과학회지 29:153 - 171, 1999.
46. Caffesse, RG, Smith BA, Castelli WA, Nasjieti CE : New attachment achieved by guided tissue regeneration in beagle dogs. J. Periodontol., 59(9):589 - 94, 1988.
47. Mellonig, JT, Bowers GM, Bright RW, Lawrence JJ : Clinical ecaluation of freeze - dried bone allografts in periodontal osseous defects, J. Periodontol., 47(3):125 - 31, 1976.
48. Pontoriero, R., Nyman S, Lindhe J, Rosenberg E and Sanavi F : Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in man, J. Clin. Periodontol., 14:618, 1987.
49. Schallhorn, R. G. & McClain, P. K. : Combined osseous composite grafting, root

사진부도(I)

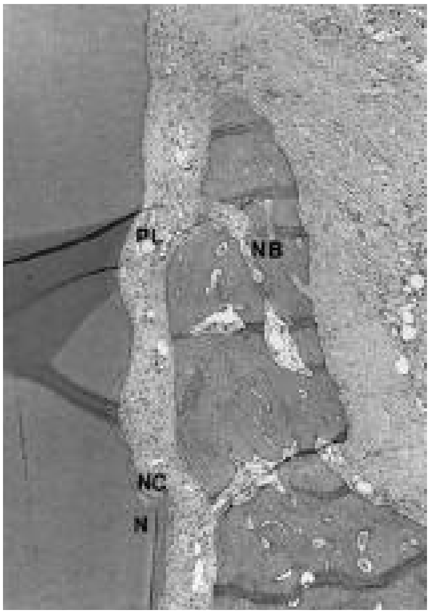
사진부도 1



사진부도 2



사진부도 3

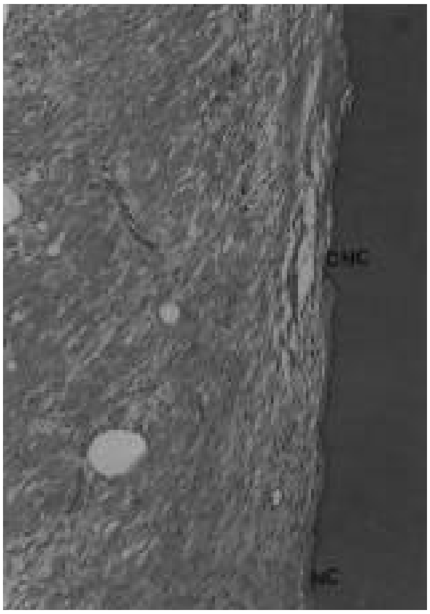


사진부도 4

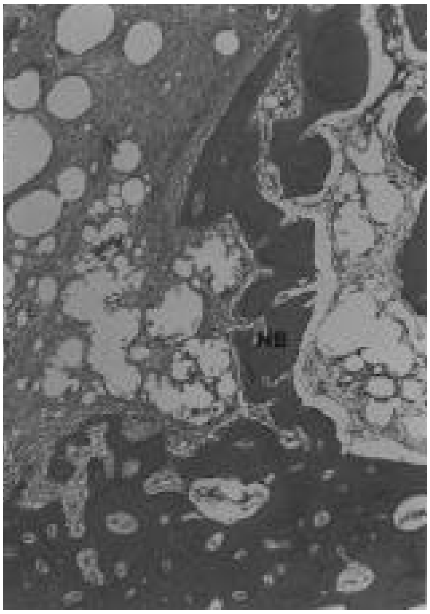
사진부도(Ⅱ)

사진부도 5

사진부도 6



사진부도 7



사진부도 8

conditioning, and guided tissue regeneration, Int. J. Periodont. Rest. Dent., 8:9, 1988.
50. 김종관, 채중규, 조규성, 김성희, 서혜연 : DFDBA와 ePTFE 차단막 혼합사용이 치주골내낭 치유에 미치는 영향, 대한치주과학회지, 26:567, 1996.
51. 손효상, 조규성 : 성견의 열개형 골 결손부에서 PDGF - BB와 IGF - I이 치주조직 치유에 미치는 영향, 대한치주과학회지, 26:799, 1996.

사진부도 설명

사진부도 1. 대조군의 소견(H - E, X 10)
신생골 형성이 미약하고, 주로 결합조직에 의해 치유되어있다.

사진부도 2. 대조군의 소견(H - E, X 40)
신생백악질이 치근면을 따라 신생골 약간 상방까지 얇게 형성되어 있다. Notch부위로 다수의 파골 세포들이 군집되어있다.

사진부도 3. 실험 I군의 소견(H - E, X 10)
상피의 근단 이동이 미약하고 Notch상방으로 신생 골 형성이 관찰 된다.

사진부도 4. 실험 I군의 소견(H - E , X 40)
신생 백악질과 신생 골이 치근면을 따라 Notch상방으로 형성되어 있다.

사진부도 5. 실험 II군의 소견(H - E , X 10)
상피의 근단 이동이 미약하고 Notch 상방으로 비교적 많은 신생골 형성이 관찰된다.

사진부도 6. 실험 II군의 소견(H - E , X 40)
Notch 상방으로 형성된 신생백악질과 신생골의 소견으로 신생골 표면으로 배열된 골세포가 관찰된다.

사진부도 7. 실험 II군의 소견(H - E , X 100)
신생백악질에서 결합조직 유착부위로 이행되는 부위의 소견으로 신생백악질로는 결합조직 섬유가 함입되어 있으며 신생백악질 상방으로는 치근 흡수와 함께 결합조직 섬유가 치근면을 따라 평행하게 주행하는 것을 볼 수 있다.

사진부도 8. 실험 II군의 소견(H - E , X 40)
신생골 형성부위의 소견으로 신생골 주위로 다수의 공포들이 관찰 되었다. 이는 흡수과정에 있는 이식재의 영향으로 형성된 것으로 고려된다.

사진부도 약자풀이

NB : reference notch
하단 JE : 접합상피
CT : 결합조직
PL : 치주인대
NB : 신생골
NC : 신생백악질
cNC : 신생백악질 상단
CB : 백악아세포
OC : 파골 세포
OB ; 골 세포

- Abstract -

The Effects of Enamel Matrix Derivative and Calcium Sulfate Paste on the Healing of 1 - Wall Intrabony Defects in Beagle Dogs

Seong - Ho Choi[1], Chang - Sung Kim[1], Jong - Jin Suh[1], Jeong - Hye Kim[2], Hyun - Young Kim[1], Kyoo - Sung Cho[1] ,Chong - Kwan Kim[1]

[1]Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University
Research Institute for Periodontal Regen - eration
[2]Department of Periodontology, The Insti - tute of Oral Health Science
SamSung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine

Recently, it was reported that enamel matrix derivative may be beneficial in peri - odontal regeneration procedures in expecta - tion of promoting new bone and cementum formation. The aim of present study was to evaluate the effect of enamel matrix deriva - tive(Emdogain?)and Caso4 sulfate paste in 1 - wall intrabony defects in beagle dogs.

Surgically created 1 - wall intrabony defects were randomly assigned to receive root debridement alone or Emdogain® or Emdogain® and Caso4. Clinical defect size was 4 X 4mm. The control group was treat - ed with root debridement alone,and Experi - mental group I was treated with enamel matrix derivative application, and Experi - mental group II was treated with enamel matrix derivative and Caso4 sulfate paste application,. The healing processes were histologically and histometrically observed after 8 weeks and the results were as fol - lows :

1. The length of junctional epithelium was 0.41±0.01mm in the control group, 0.42±0.08mm in the experimental group I and 0.50±0.13mm in the experimental group II.
2. The connective tissue adhesion was 0.28±0.02 mm in the control group, 0.13±0.08mm in the experimental group I and 0.19±0.02 mm in the experimental group II.
3. The new cementum formation was 3.80 ±0.06 mm in the control group, 4.12± 0.43mm in the experimental group I and 4.34±0.71mm in the experimental group II.
4. The new bone formation was 1.43± 0.03mm in the control group, 1.53± 0.47 mm in the experimental group I and 2.25±1.35mm in the experimental group II.

Although there was limitation to present study, the use of enamel matrix derivative in the treatment of periodontal 1 - wall intrabony defect enhanced new cementum and bone formation. Caso4 sulfate paste will be the candidate for carriers to deliver enamel matrix derivative, and so enhance the regenerative potency of enamel matrix

derivative.

Key words : periodontal tissue regeneration, enamel matrix derivative, 1 - wall intrabony defect, Caso4 sulfate patse