

백서 두개골 결손부에서 입자 크기에 따른 Calcium aluminate cement의 효과

신정아¹ · 윤정호¹ · 오승한² · 백정원¹ · 최세영² · 김종관¹ · 최성호¹

연세대학교 치과대학 치주과학교실, 치주조직재생연구소, BK21 의과학사업단¹,
연세대학교 공과대학 세라믹 공학과²

I. 서론

치주 치료의 최종 목적은 질환의 진행을 정지시키는 것 뿐 아니라 이미 파괴된 지지 조직을 심미적, 기능적으로 재생시키는 데 있다. 특히, 골결손의 재생은 치주과 영역에서 매우 중요한 부분으로, 이러한 골결손은 외상, 심한 치주 질환, 치수 질환, 감염, 종양 적출 등에 의해 야기될 수 있다. 수평적이든 수직적이든 간에 어떠한 조그마한 골결손도 문제를 야기할 수 있으며, 이러한 문제들을 해결하기 위해 다양한 재료와 수술 방법이 사용되어져 왔다. 그 중 가장 보편적인 방법으로 자가골을 채취하여 이식하는 방법이 있다¹⁾. 자가골을 채취하는 부위는 구강내와 구강외 부위로 구분할 수 있는데 골량이 제한적이며 이차적인 창상 부위의 형성이 필요하다. 이 외에 골의 분말 형태와 여러 가지의 동종골 이식이 사용되어져 왔으나, 질환의 전파 가능성을 완전히 배제할 수 없고, 대부분의 재료가 단지 수동적인 골형성의 뼈대로서만 작용한다고 보고되고 있으며 세포 수준에서 골형성을 유도할 수 있는 능력이 있는지의 의심의 여지가 있다²⁾.

이에 비해, 합성골 이식은 골량의 제한이 없고 이

차적 창상이 형성되지 않는 장점을 가지고 있다^{3,7)}. 아직까지 이상적 합성골 이식재를 개발하기 위한 연구는 계속되고 있으며, 다음과 같은 조건이 요구된다. 첫째, 생체 활성이 우수해야 한다. 생체 활성이 우수해야 생체 내에서 쉽게 반응하여 골과 강한 결합을 유도할 수 있기 때문이다. 둘째, 생체 내에서 이물반응(Inflammatory reaction)에 의한 염증 발생이 없어야 한다. 독성이 있는 인공재료를 생체 내 이식할 경우, 주변조직과의 이물반응으로 인하여 조직의 괴사 및 염증을 유발시킬 수 있으므로 독성이 없는 재료를 선택해야 한다. 셋째, 단기간 내에 주변 조직과 결합하여 골화되어야 한다. 골과 인공 재료 간의 반응이 느린 경우, 골수복은 가능하나 짧은 기간 내에 골조직 재생이 어려우므로 작은 하중에도 쉽게 골과 분리되는 문제점을 나타낼 수 있기 때문이다⁸⁾.

최근 산업용 시멘트가 기계적 및 구조적 물성의 증진을 위하여 여러 방향으로 개발되어 왔으며, 특히 calcium aluminate cement는 high alumina cement라고도 불리며, 1900년대 개발된 특수 시멘트로서 우수한 기계적/화학적 물성으로 인하여 건축 구조물의 여러 분야에서 많이 이용되고 있다. 이러한 calcium

*이 논문은 2001년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2001-042-E00112)

교신 저자: 최성호, 서울특별시 서대문구 신촌동 134 연세대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호: 120-752

aluminate cement는 CaO와 Al₂O₃가 1 : 1의 몰비로 구성된 CaO · Al₂O₃(CA)가 주성분이고 12CaO · 7Al₂O₃(C₁₂A₇) 및 CaO · 2Al₂O₃(CA₂)가 소량 포함되어 있는 시멘트로, 50 mol%의 CaO를 함유하고 있어 생체 내에서 Ca²⁺ 이온이 다량 용출될 경우, 과포화된 Ca-P 반응에 의한 hydroxyapatite의 생성이 쉬우므로 우수한 생체 활성을 나타낼 수 있으며, 수화반응에 따른 40℃ 미만의 낮은 발열량으로 인하여 생체 내에서 골 및 섬유 세포의 열적 피사를 방지할 수 있으므로 새로운 생체 활성 골시멘트로의 이용 가능성이 높다^{9,10}). 그러나 산업용 calcium aluminate cement를 결손골 수복용 골시멘트로 임상에서 실질적으로 사용하기 위해서는 기존의 경화 시간(약 7시간)을 60분 이내로 단축시켜야 하고, 초기 강도(24시간 후, 약 60 MPa)를 100 MPa 이상 증가시켜야 하며, 생체 내에 장기간 삽입했을 때, 강도의 저하가 적어야 한다.

따라서, 예비 연구를 통하여 빠른 경화 시간(60분 이내), 낮은 발열 온도(47℃ 미만) 및 높은 초기 강도(24시간 후, 100 MPa 이상)를 갖는 결손골 수복용 calcium aluminate 골시멘트를 개발하였고, C₃A(3CaO · Al₂O₃) 및 CA₂(CaO · 2Al₂O₃) 첨가량에 따른 경화거동 및 기계적 물성을 조절하였다¹¹). 또한 한천 증층법(Agar diffusion test)을 이용한 세포 독성 평가와 토끼혈을 이용한 용혈성(hemolysis) 실험을 수행하여 모든 실험에서 가장 우수한 물성을 나타내는 실험 조성을 선택한 후, 유사 체액(Simulated body fluid)을 이용한 생체 외 실험(In vitro test)을 수

행한 바 있다¹¹).

이상의 예비 연구에서 개발된 calcium aluminate cement는 입자 크기가 3.5µm였다. 그러나 골 이식재의 입자 크기는 세포의 분화와 증식에 있어서 중요한 역할을 한다고 하였으며, 치주 조직의 재건을 위한 골 이식 재료는 입자 크기가 250-750µm인 것이 적당하다고 하였다^{12,13}). 또한 입자 간의 간격 크기(pore size)가 신생골 성장에 중요하며 간격의 크기는 100-200µm인 것이 내피 세포 및 섬유아세포가 자라 들어가기에 최적 요건이라고 하였다¹⁴). 따라서, 본 연구에서는 처음 개발한 3.5µm 입자의 재료와 치주 영역에서 추천되고 있는 250-750µm 입자의 재료를 사용하여 calcium aluminate cement의 골과의 결합성 및 주변 조직 반응을 규명하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

가. 재료

1. 실험동물

체중 250-300g의 웅성 백서(Sprague Dawley rat) 30마리를 사용하였다. 실험동물은 연세대학교 임상 의학연구센터에 의한 관리에 따랐다.

2. 실험재료

연세대학교 공과대학 세라믹공학과에서 제조한 3.5µm, 212-250µm 입자 크기의 calcium aluminate cement를 사용하였다.

Table 1. Study design

Group	Treatment	Particle size	2 weeks	8 weeks
Control	No treatment		5	5
Exp. 1	calcium aluminate cement(CAC)* 3CaO · Al ₂ O ₃ (C ₃ A), CaO · 2Al ₂ O ₃ (CA ₂)	212µm~250µm	5	5
Exp. 2	calcium aluminate cement(CAC)* 3CaO · Al ₂ O ₃ (C ₃ A), CaO · 2Al ₂ O ₃ (CA ₂)	3.5µm	5	5

* 케타린 Ketalan, Yuhan Co., Seoul, Korea

§ 럽퐁 Rompun, Bayer animal health Co., Suwon, Korea

† trephine bur, 3i, FL, USA

‡ Ethilon®, Ethicon, Edinburgh, Scotland, UK

나. 방법

1. 실험군 설정

두개골 결손부에 아무 것도 이식하지 않은 군을 대조군으로, calcium aluminate cement(calcium aluminate cement(CAC) + $3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3(\text{C}_3\text{A})$, $\text{CaO} \cdot 2\text{Al}_2\text{O}_3(\text{CA}_2)$)를 실험군으로 설정하였으며, 입자 크기가 $212\mu\text{m} \sim 250\mu\text{m}$ 를 실험 1군으로, $3.5\mu\text{m}$ 를 실험 2군으로 하여 각각 이식하였다(Table 1). 각 군 당 10마리씩이며 술후 2주, 8주 각 주당 5마리씩 설정하였다.

2. 두개골 결손부 형성 및 외과적 처치

각 군의 백서를 염산 케타민*(50mg/ml)과 럼폰[®]을 근육 주사(70mg/kg)하여 마취한 후 두부 및 등의 털을 깎고 고정하였다. 수술 부위를 소량의 2% lidocaine (1:10만 epi 함유)으로 침윤 마취한 후 전두골 전방부에서 후두골 후방부까지 정중부를 따라 두피를 절개하여 두개골의 상면을 노출시킨다. 8mm trephine bur⁺를 이용하여 뇌막의 손상을 주지 않도록 하면서 지름 8mm의 원형 defect를 형성하였다 (figure 1). 대조군에는 아무 것도 이식하지 않고 4 종류의 실험군에는 각각의 방법으로 제조된 calcium aluminate cement를 위치시킨 후 두피를 덮어 Ethilon^{®+} 봉합하였다. 실험 2주, 8주 후 각 군당 5마리씩 실험동물을 희생시키고 두개골을 절제하였다.

3. 조직학적 관찰

대조군의 절제한 조직을 10% 포르말린에 고정하고 5% nitric acid에 넣어 탈회시킨 후 파라핀 포매하였다. 이 블록을 $3\mu\text{m}$ 두께로 결손부의 중앙부에서 관상면으로 절단하여 블록 당 4장의 슬라이드를 제작하였다. 이를 Hematoxylin-Eosin(H-E) 염색법으로 염색하고, 광학현미경으로 관찰하였다. 실험군은 절제한 조직을 10% formalin에 고정한 후 Villaneuva 염색법으로 염색하고, resin 포매하여 section하였다¹⁵⁾. Milling saw로 $400\mu\text{m} \sim 500\mu\text{m}$ 두께 절편을 잘라낸 후 눈금을 새긴 glass판 두 장 사이에서 $20\mu\text{m}$ 두께의 표본을 광학현미경으로 관찰하였다.

III. 결과

가. 대조군

1. 2주 소견 (figure 2, 3)

신생골은 조골세포에 의해 둘러 싸여 있고 주위로 염증 세포가 관찰되었다. 신생골 형성과 연조직 치유가 진행 중임을 알 수 있었다.

2. 8주 소견 (figure 4, 5)

결합 조직이 균일한 밀도를 보이고 골막과 경막이 연속적으로 이어져 있으나 결손부의 중앙부는 성긴 결합조직에 의해 채워져 있었다. 신생골은 골막 부위로는 성숙된 양상을 보이고 경막 쪽은 넓은 골수강을 보이며 미성숙한 채로 있다.

나. 실험군

1. 실험 1군

(1) 2주 소견 (figure 6, 7)

골막과 경막이 연결되어 있었고 calcium aluminate 입자들 사이로 염증 세포의 침윤이 있었다. 결손부 변연에는 상방의 골막까지 3면에서 미성숙골이 형성되어 골무같은 형태를 보였고, 최외층은 골성 조직(osteoid layer)이 둘러싸고 있었다. 미성숙골과 골성 조직 사이에는 조골 세포가 줄지어 배열되어 있었다.

(2) 8주 소견 (figure 8, 9)

두개골과 경막 사이에 거대세포와 다형핵 백혈구가 관찰되었다. 골막과 경막이 연결되어 있고 바로 하방으로 잘 정돈된 섬유성 결합조직에 의해 calcium aluminate 입자들이 고정되어 있었다. 결손 중앙부위의 calcium aluminate 입자들은 성긴 결합조직에 의해 둘러싸여져 있고, 결손부 변연에서는 골 성숙이 관찰되고 골성 조직이 관찰되었다. 골성 조직과 calcium aluminate 입자간의 간격은 2주에 비해 매우 가까워 있었다.

2. 실험 2군

(1) 2주 소견 (figure 10, 11)

골막과 경막의 연속성이 상실되고 염증 세포의 침윤이 두드러져 있었다. 3.5 μ m의 작은 입자가 결손부 상방으로 분산되어 퍼져있는 양상을 보였으며, 이로 인해 기존골 상방에도 calcium aluminate 입자의 분산과 염증 세포의 침윤을 확인할 수 있었다.

(2) 8주 소견 (figure 12, 13)

Calcium aluminate 입자들은 이식한 결손부에 고정되어 있지 않았고, 2주와 비교하였을 때 염증 세포의 침윤이 증가한 양상이었다. 결손부 변연의 기존 골은 불규칙하게 흡수된 양상을 보였다.

IV. 총괄 및 고찰

1963년 Smith¹⁶⁾가 세라믹을 경조직 재건에 이용할 수 있다고 제안한 이래 임상적 응용을 위한 다양한 연구가 시행해져 왔다. 1971년 생체활성 유리가 골과 화학적 결합을 이룬다는 보고 이후로, 수많은 종류의 bioactive glass, 및 glass-ceramics, hydroxyapatite (HA), calcium phosphate 및 복합재료 등이 연구되어져 왔다¹⁷⁻²⁰⁾. 생체활성 재료로 사용되기 위해 요구되는 특성들은 뛰어난 생체친화성, 높은 기계적 강도 그리고 표면에 HA의 형성여부이다. 특히, HA 형성 메카니즘은 주로 생체 재료로부터 체액 내로 Ca^{2+} 이온이 유리되어 체액 내의 과포화도를 증가시켜 HA를 형성한다. 따라서, HA의 핵생성과 결정 성장은 체액으로부터 Ca^{2+} 이온과 P^{5+} 이온의 반응 속도에 의해 조절된다. 결국 생체 재료 내의 Ca가 HA를 형성하는데 중요한 역할을 담당하고 있음을 알 수 있다. Al_2O_3 는 대표적인 고강도 합성골 이식재로서 지난 수십년간 정형 외과에서 많이 사용되어 왔다²¹⁾. Al_2O_3 는 20~30 GPa의 경도를 보이며, 생체 내에서 주변골과의 마찰에 의한 마모 및 손상이 거의 없는 대표적인 생체 비활성 재료 중의 하나이다. 생체 흡수성 재료는 생체 내에서 흡수되어 완전히 골화되는 재료로서 생분해 속도가 빠르므로 단기간 내에서 완전히 분해되어 쉽게 골화되지만 기계적 물성이 낮으므로 하중받는

부위의 골결합에는 사용이 부적절하다.

Calcium의 우수한 생체활성능력과 Al_2O_3 의 뛰어난 기계적인 특성을 접목시켜 개발된 것이 calcium aluminate($CaO \cdot Al_2O_3$, CA)로, Hammer III 등 (1972)²²⁾은 calcium aluminate로 제조된 치근 임플란트가 tissue adherence 및 host acceptance에 있어서 우수한 성질을 나타내었다고 보고하였고, Hentrich 등(1971)²³⁾은 calcium aluminate가 ZrO_2 와 Al_2O_3 에 비하여 mineralization이 우수하다고 보고하였다. 그러나 이전의 연구는 과량의 calcium aluminate에 대해서만 중점적으로 연구되었을 뿐, 분말상의 calcium aluminate에 관한 연구는 전무한 실정이다. 또한 calcium aluminate 골시멘트는 1908년 Bied에 의해 최초로 개발된 초속경 고강도 특수 시멘트로서 calcium aluminate을 주성분으로 하며, 1~2 wt%의 $C_{12}A_7(C_2A$ 와 거의 동일함)와 CA_2 가 함유되어 있다. 그러나 calcium aluminate 골시멘트의 느린 경화시간(180 분)과 낮은 초기강도(24시간 후, 60.1 MPa)로 인하여 결손골 수복용 생체활성 골시멘트로 사용하기에는 많은 문제점이 있다. 이러한 calcium aluminate 골시멘트의 느린 경화시간과 낮은 초기강도를 보완하기 하기 위한 방법으로는 CaO 와 Al_2O_3 로 구성된 $C_3A(3CaO \cdot Al_2O_3)$ 와 $CA_2(CaO \cdot 2Al_2O_3)$ 등의 calcium aluminate 화합물을 첨가하는 방법과 산업용 시멘트에서 사용되는 전형적인 경화촉진제와 강도증진제를 이용하는 방법이 있다. Calcium aluminate 화합물을 첨가하는 방법으로 $3CaO \cdot Al_2O_3(C_3A)$, $CaO \cdot 2Al_2O_3(CA_2)$ 를 함유한 cement을 제조하였다.

이상의 calcium aluminate 골시멘트는 기존에 사용되고 있는 여러 가지 골 이식재에 비해 조작성과 강도가 우수하여 치주 수술 시 판막의 장력 없이 일차성 봉합을 이루기 용이하다는 장점이 있다.

새로 개발된 각종 calcium aluminate의 골과의 결합성 및 조직반응을 알아보고자 백서 두개골 결손부 실험 모델을 선택하였다. 호르몬 분비나 성장에 따른 치유 능력의 변화를 배제하기 위하여 성장이 완료된 웅성 백서만을 사용하였으며, 8mm 원형의 임계 크기 결손(critical size defect, CSD)을 형성하였다.

백서의 두개골에서의 임계 크기 결손에 대한 연구는 Freeman과 Turnbull 등²⁴⁾에 의해 처음 시도되었으며, 그 후 Takagi와 Urist 등²⁵⁾은 백서 두개골에 8mm 원형 결손부를 형성하였을 때 4주 뒤에 5mm로 감소하고 12주가 지나도 더 이상의 치유가 일어나지 않음을 관찰하였다. 상기의 결손부 모형을 이용하여 이식 재료의 골조직 재생 유도 능력을 평가한 연구에서, 김 등²⁶⁾은 홍화씨 추출물이 골조직 재생 유도 효과가 있다고 하였고, 정 등²⁷⁾은 같은 실험 모형을 사용하여 수용성 키토산의 골조직 재생 유도 효과를 연구한 결과 신생골의 형성 능력이 있음을 밝힌바 있다.

Schmitz 등²⁸⁾은 백서 두개골 결손부 치유 과정을 염증기, 비유합 수렴기, 성숙기로 구분하였다. 염증기는 술 후 10일까지로 염증이 존재하고 섬유소와 적혈구가 응집되어 혈종을 형성한다. 비유합 수렴기는 11일부터 20일까지를 지칭하며 혈종의 크기가 줄어든다. 활성화된 섬유모세포는 많은 양의 조면 세포체를 포함하며, 불규칙하게 배열된 교원질 같은 섬유에 의해 둘러싸여 있다. 반도 형태의 신생골 주위로 불활성화된 조골 세포가 열 지어 있고 치밀한 섬유성 결합 조직이 둘러싸고 있다. 결손부 중앙부에는 둥근 과립 세포의 응집이 관찰된다. 14일째에는, 비유합 조직은 더 조직화된 섬유 다발 속으로 교원질 질양 섬유가 배열된다. 성숙기는 21일 이후이며, 21일째에는 말단과 중앙부의 세포의 기질이 성숙한 반흔 조직의 특징을 보인다. 섬유모세포 사이에서 교원질이 치밀한 섬유 다발 속으로 조직화된다. 조골 세포로 둘러싸인 고립된 골섬도 관찰된다. 28일째에, 중앙부와 말단부에는 치밀한 섬유성 결합 조직이 존재하며 골 주위로 방추형 세포가 둘러싸고 있다. 골수를 포함하는 골이 결손부의 경뇌막 쪽에 존재한다. 42일째에는 두껍고 잘 조직화된 교원질 섬유 다발을 포함하는 성숙한 결합 조직이 결손부 전역에 존재한다. 본 연구에서도 대조군에서 위와 같은 조직 소견을 확인할 수 있었다.

본 연구 결과, 대조군은 골 치유 양상에 있어서 주로 경뇌막과 절단면에서 골 재생이 일어나 삼각형 형태를 보인 반면 실험 1군은 calcium aluminate 입자가

이식된 경뇌막과 절단면 뿐만 아니라 상부 골막 안쪽까지 잔존골 주변으로 골무와 같은 양상으로 미성숙 골이 형성되어 있는 것을 관찰할 수 있었다. 미성숙 골의 외층은 골성 조직이 둘러싸고 있었다. 골성 조직의 존재는 현재 골 재생이 활발히 진행되고 있으며 향후에도 계속 진행될 것임을 알려준다. 대조군의 경우 2주까지는 신생골 전방에 골성 조직이 위치해 있으나, 8주가 되면 골성 조직이 관찰되지 않는다. 이는 골 성장이 거의 멈추었음을 의미한다. 반면, 실험 1군의 경우에는 8주 소견에서도 변연골 전방에 골성 조직이 존재하며 그 주위에 조골 세포가 줄지어 늘어선 것을 관찰할 수 있다. 이는 아직 말단에서 골 성장이 진행되고 있으며 앞으로도 길이 성장이 더 이루어질 수 있음을 시사한다. 또한, 212 μ m~250 μ m 입자를 사용한 실험 1군은 실험 시 조작성이 매우 우수하여 결손부에 이식 재료를 충전하고 고정하기에 용이하였다. 이에 비해, 실험 2군은 개발 단계와 예비 실험에서 낮은 세포 독성과 우수한 기계적 물성을 확인하였으나, 본 실험에서는 작은 입자 크기로 인한 조작성 불량과 조직의 치유에 있어서도 매우 불량한 소견을 나타내었다. 1971년 Klawitter²⁹⁾는 100 μ m의 입자 간 간격(pore size)이 조직의 침투에 적절한 최소한의 크기라고 보고하였으며, 이는 본 연구에서 실험 2군을 이식한 경우 신생 조직이 형성되지 않은 이유로 간주할 수 있다. 입자 간 간격은 너무 작을 경우 신생 조직의 침투와 성장이 이루어질 수 없고, 반대로 너무 클 경우 압축력에 견디기 어렵기 때문에 적절한 균형점을 이루어야 하기 때문이다.

결론적으로 백서 두개골 결손부에 212 μ m~250 μ m 입자의 calcium aluminate 시멘트를 적용한 경우 주변 조직의 성장과 치유에 있어 생체 친화적인 재료로 사료되며, 향후 골과의 직접 결합에 대한 연구 및 골 재생 능력에 관한 연구가 계속되어 치주 영역에 다양하게 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

VI. 결론

우수한 생체 친화 능력과 기계적인 특성을 접목시켜 개발한 calcium aluminate(CaO · Al₂O₃, CA) 시멘

트의 생체 적용 효과를 알아보기 위해 3.5 μ m 입자의 재료와 치주 영역에서 추천되고 있는 212 μ m~250 μ m 입자를 백서 두개골 8mm 원형 결손부에 이식하여 기존 골과의 결합 양상 및 주변 조직 반응을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군은 2주에서 염증 세포가 관찰되었고, 8주에는 골막과 경막이 연속적으로 이어져 있었으나 결손부의 중앙부는 성긴 결합조직에 의해 채워져 있었다.
2. 실험 1군 (212 μ m~250 μ m 입자)은 2주에서 미성숙골이 형성되어 있었고, 최외층은 골성 조직이 둘러싸고 있었다. 미성숙골과 골성 조직 사이에는 조골 세포가 출지어 배열되어 있었으며, 골성 조직은 8주에도 잔존하였다.
3. 실험 2군 (3.5 μ m 입자)은 2주에서 골막과 경막의 연속성이 상실되고 calcium aluminate 입자의 분산과 염증 세포의 침윤을 확인할 수 있었으며, 이러한 소견은 8주에서 더욱 심화되었다.

결론적으로 백서 두개골 결손부에 212 μ m~250 μ m 입자의 calcium aluminate 시멘트를 적용한 경우 주변 조직의 성장과 치유에 있어 생체 친화적인 재료로 사료되며, 향후 골과의 직접 결합에 대한 연구 및 골 재생 능력에 관한 연구가 계속되어 치주 영역에 다양하게 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

VI. 참고 문헌

1. Schallhorn RG, Hiatt WH, Boyce W: Iliac transplants in periodontal therapy, J Periodontol. 1970 Oct; 41(10):566-80
2. Schallhorn RG, Hiatt WH: Human allografts of iliac cancellous bone and marrow in periodontal osseous defects. I. Rationale and methodology, J Periodontol. 1971 Oct;42(10):642-7
3. Uchida A, Nade SM, McCartney ER, Ching W: The use of ceramics for bone replacement. A comparative study of three different porous ceramics, J Bone Joint Surg Br. 1984 Mar;66(2):269-75
4. Chang RC, Kao AS: Biomechanical and histological studies of particulate hydroxylapatite implanted in femur bone defects of adult dogs, Int J Oral Maxillofac Surg. 2000 Feb;29(1):54-61
5. Strub JR, Gaberthuel TW, Firestone AR: Comparison of tricalcium phosphate and frozen allogenic bone implants in man, J Periodontol. 1979 Dec;50(12):624-9
6. Uchida A, Nade S, McCartney E, Ching W: Growth of bone marrow cells on porous ceramics in vitro, J Biomed Mater Res. 1987 Jan;21(1):1-10
7. Vaccaro AR: The role of the osteoconductive scaffold in synthetic bone graft, Orthopedics. 2002 May;25(5 Suppl):s571-8
8. Kokubo T: Recent progress in glass-based materials for biomedical applications, J. Ceram. Soc. Japan, 1991; 99: 965-973
9. Schnittgrund GD, Kenner GH, Brown SD: In vivo and in vitro changes in strength of orthopedic calcium aluminates, J Biomed Mater Res. 1973;7(3):435-52
10. Mattie DR, Bajpai PK: Analysis of the biocompatibility of ALCAP ceramics in rat femurs, J Biomed Mater Res. 1988 Dec;22(12):1101-2
11. 오승환: Calcium aluminate 복합 골시멘트의 경화거동, 기계적 특성 및 생체활성. 박사학위 논문, 연세대학교 대학원. 서울, 2002
12. Shapoff CA, Bowers GM, Levy B, Mellonig JT, Yukna RA., The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogeneic freeze-dried bone and autogenous marrow, J Periodontol. 1980 Nov;51(11):625-30
13. Alan M Polson, Periodontal regeneration -current status and directions, Quintessence books, 1994;86-87
14. Bhaskar SN, Cutright DE, Knapp MJ, Beasley JD,

- Perez B, Driskell TD: Tissue reaction to intra-bony ceramic implants, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1971 Feb;31(2):282-9
15. 문명상 권순용, 골형태계측편람, 제2판, 셀론텍, 1997, 50-51
 16. Smith L: Ceramic-plastic material as a bone substitute. 1963, *Clinical Orthopedics*. 1992 Sep;(282):4-9
 17. Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, and Greenlee TK: Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials: *J Biomed Mater Res Symp*, 1971, 2, 117-141
 18. Ohura K, Nakamura T, Yamamuro T, Kokubo T, Ebisawa Y, Kotoura Y, Oka M: Bone-bonding ability of P2O5-free CaO.SiO2 glasses, *J Biomed Mater Res*, 1991 Mar;25(3):357-65.
 19. Kokubo T, Ito S, Huang ZT, Hayashi T, Sakka S, Kitsugi T, Yamamuro T: Ca,P-rich layer formed on high-strength bioactive glass-ceramic A-W, *J Biomed Mater Res*, 1990 Mar;24(3):331-43
 20. Jarcho M, Kay JF, Gumaer KI, Doremus RH, Drobeck HP: Tissue, cellular and subcellular events at a bone-ceramic hydroxylapatite interface, *J Bioeng*. 1977 Jan;1(2):79-92
 21. Hamadouche M, Sedel L: Ceramics in orthopaedics, *J Bone Joint Surg Br*. 2000 Nov;82(8):1095-9
 22. Hamner JE 3rd, Reed OM, Greulich RC: Ceramic root implantation in baboon, *J Biomed Mater Res*. 1972;6(4):1-13.
 23. Hentrich RL, Graves GA, Stein HG, Bajpai PK: An evaluation of inert and resorbable ceramics for future clinical orthopedic applications, *J Biomed Mater Res*. 1971 Jan;5(1):25-51
 24. Freeman E, Turnbull RS: The value of osseous coagulum as a graft material, *J Periodontal Res*. 1973;8(4):229-36
 25. Takagi K, Urist MR: The reaction of the dura to bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects, *Ann Surg*. 1982 Jul;196(1):100-9
 26. 김성태, 전길자, 임소형, 조규성, 김종관, 최성호: 백서 두개골 결손부에서 홍화씨 추출물의 골조직 재생 유도 효과, *대한치주과학회지*, 30(4): 835-850, 2000
 27. 정의원, 서종진, 최성호, 조규성, 채중규, 김종관: 백서 두개골 결손부에서 키토산의 골조직 재생 유도 효과, *대한치주과학회지*, 30(4): 851-868, 2000
 28. Schmitz JP, Schwartz Z, Hollinger JO, Boyan BD, Characterization of rat calvarial nonunion defects: *Acta Anatomica (Basel)*. 1990;138(3):185-92
 29. Hulbert SF, Morrison SJ, Klawitter JJ: Tissue reaction to three ceramics of porous and non-porous structures, *J Biomed Mater Res*. 1972 Sep;6(5):347-74

사진 부도 설명

- Figure 1. The calvarial defect was produced to measure 8mm in diameter with a trephine bur.
- Figure 2. Control group, 2 weeks after operation, Arrows indicate the margins of defect(H-E X10).
- Figure 3. Control group, 2 weeks after operation, Arrows indicate the interface between the existing bone and the newly formed bone. The new bone formed beside the margin of defect and in the deep layer of the dura mater(NB: new bone, DM: dura mater), (H-E X100)
- Figure 4. Control group, 8 weeks after operation, Arrows indicate the margins of defect (H-E X10).
- Figure 5. Control group, 8 weeks after operation, Arrows indicate the margins of defect, Bone formation was limited, Osteoblasts were decreased(H-E X100).
- Figure 6. Experimental group 1, 2 weeks after operation, Arrows indicate the margins of defect(Villaneuva stain X20).
- Figure 7. Experimental group 1, 2 weeks after operation, Arrows indicate layers of osteoblasts(OL: osteoid layer, OB: original bone, CAC: calcium aluminate cement) (Villaneuva stain X100).
- Figure 8. Experimental group 1, 8 weeks after operation, Arrows indicate the margins of defect, (Villaneuva stain X20)
- Figure 9. Experimental group 1, 8 weeks after operation, Arrows indicate the layers of osteoblasts, Osteoid layer was still remained, New bone became close to the CAC particles, (Villaneuva stain X100)
- Figure 10. Experimental group 2, 2 weeks after operation, Note scattered CAC(Villaneuva stain X20).
- Figure 11. Experimental group 2, 2 weeks after operation, There were prominent inflammatory cells(Villaneuva stain X100).
- Figure 12. Experimental group 2, 8 weeks after operation, Arrows indicate the margins of defect(Villaneuva stain X20).
- Figure 13. Experimental group 2, 8 weeks after operation, Arrows indicate irregular margins of defect(Villaneuva stain X100).

사진부도 (I)

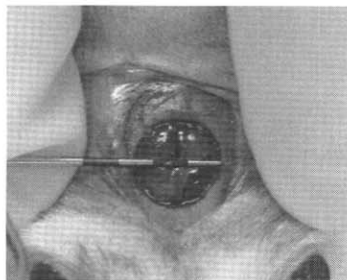


Figure 1. Defect Formation



Figure 2. Control, 2 weeks ($\times 10$)

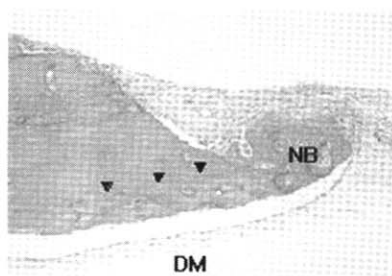


Figure 3. Control, 2 weeks ($\times 100$)



Figure 4. Control, 8 weeks ($\times 10$)

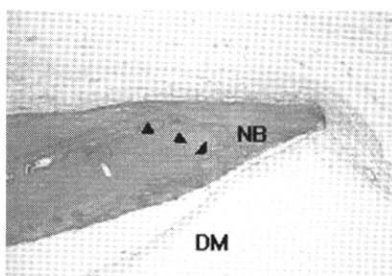


Figure 5. Control, 8 weeks ($\times 100$)

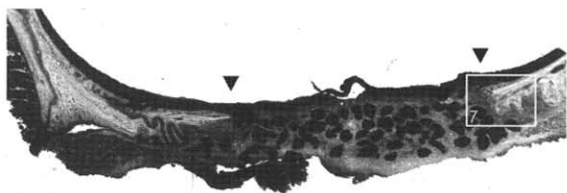


Figure 6. Exp. 1, 2 weeks ($\times 20$)

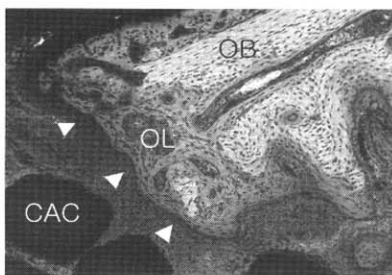


Figure 7. Exp. 1, 2 weeks ($\times 100$)

사진부도 (II)

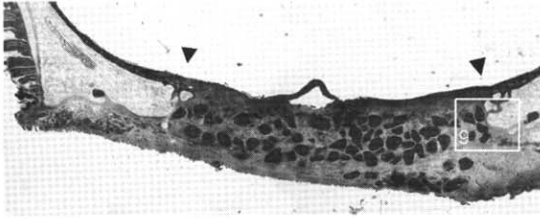


Figure 8. Exp. 1, 8 weeks ($\times 20$)

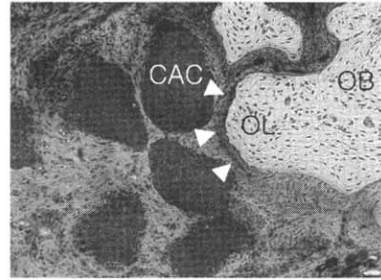


Figure 9. Exp. 1, 8 weeks ($\times 100$)

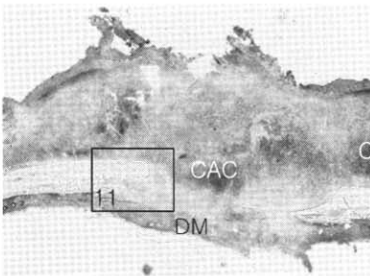


Figure 10. Exp. 2, 2 weeks ($\times 20$)

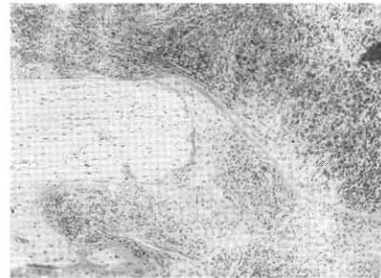


Figure 11. Exp. 2, 2 weeks ($\times 100$)

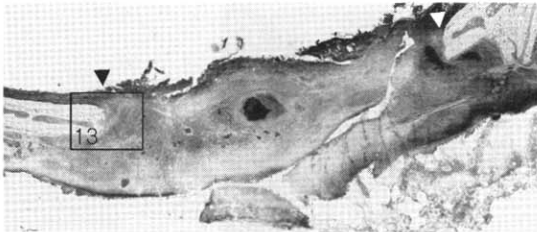


Figure 12. Exp. 8, 8 weeks ($\times 20$)

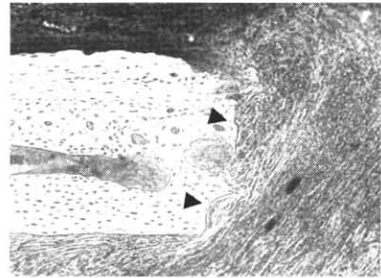


Figure 13. Exp. 2, 8 weeks ($\times 100$)

The effects of calcium aluminate cement according to particle sizes on calvarial bone defects in rats

¹Jung-a Shin, ¹Jeong-ho Yun, ²Seung-han Oh, ¹Jeong-won Paik, ²Se-young Choi, ¹Chong-Kwan Kim, ¹Seong-ho Choi

¹Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University
Research Institute for Periodontal Regeneration
Brain Korea 21 project for Medical Science
²Department of Ceramic Engineering, Yonsei University

This present study was carried out to find the effects of calcium aluminate cement ($\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$, CAC), which has been developed with bio-compatibility and mechanical properties, in biological environments. Two different particle sizes of CAC - $3.5\mu\text{m}$ vs. $212\sim 250\mu\text{m}$ which is recommended in periodontal bone grafting procedures- were filled in 8mm calvarial defect in Sprague-Dawley rat. The specimens were examined histologically, especially the bone-cement interface and the response of surrounding tissues. The results are as follows;

1. In the control group, inflammatory cells were observed at 2 weeks. At 8 weeks, periosteum and dura mater were continuously joined together in the defect areas. But in the center of defect area were filled up with the loose connective tissues.
2. In the experimental group 1 ($212\mu\text{m} \sim 250\mu\text{m}$ particle), immature bone was formed and outermost layer was surrounded by osteoid layer at 2 weeks. Osteoblasts were arranged between immature bone and osteoid layer. And, osteoid layer was remained until 8 weeks after surgery.
3. In the experimental group 2, periosteum and dura mater lost its continuity at 2 weeks. Scattering of CAC particles and infiltration of inflammatory cells were observed, which this findings deepened at 8 weeks.

The result of this study shows that when calvarial defects in white rats are filled with calcium aluminate cement of $212\sim 250\mu\text{m}$, the materials are to be bio-compatible in growth and healing on surrounding tissues. When further researches are fulfilled, such as direct bone adhesion and bone regeneration ability, it's possible that CAC could be applied to various periodontology fields in the future.

Key words : calcium aluminate, bone cement, regeneration