

혈소판 농축혈장과 범랑기질 단백질이 성견 3급 이개부 병소의 재생에 미치는 영향

김영준 · 임성빈 · 정진영 · 홍기석

단국대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서론

치아 주위조직을 재생하는 것은 치주 치료의 주된 목표로, 치주염에 이환된 사람의 치아에서 백악질과 치주인대 그리고 치조골의 재생이 가능하다는 것은 여러 임상적인 결과와 동물 실험연구를 통하여 입증되어 왔다¹⁾. 1996년 미국 치주학회의 World Workshop에서 확립한 재생에 대한 기본 개념은 치근면이 병적으로 노출되어 치주 치료를 시행한 후 새로운 백악질, 치주인대, 치조골 등이 생성되어 상실된 조직이 재건되는 것을 의미한다²⁾.

치근 이개부 병변이란 복근치나 다근치 치근 사이의 치주인대부착 및 결합조직 부착이 상실된 상태를 말하며, 상하악 제 1, 2 대구치와 상악 소구치에서 발생한다³⁾. 이러한 치근 이개부 병변의 정확한 진단을 위해서 Glickman⁴⁾은 치근 이개부 병변을 진행 정도에 따라 4단계로 분류하였는데, 1급 치근이개부 병변이란 치근 이개부의 치주 인대의 파괴가 시작되지만 치조골의 소실은 육안적으로나 x-ray상으로 나타나지는 않는 상태를, 2급 치근 이개부 병변이란

치근 이개부에 치조골의 파괴가 있으며 치주낭의 깊이는 다양하나 치아의 반대측으로 완전히 관통되지 않는 상태로 정의했으며, 3급 치근 이개부 병변은 완전히 관통되나 치은에 의해서 덮혀 있는 상태를, 4급 치근 이개부 병변은 치주조직이 심하게 파괴되어 치근 이개부가 구강내로 완전히 노출되어 있는 상태라고 정의했다.

또한 치주 조직의 재생 치료에 있어서 성장인자의 화학주성 효과가 중요하다고 보고되고 있는데⁶⁻⁷⁾ 완벽한 재생을 이루기 위해서는 조골세포와 치주인대 세포의 역할이 중요하다고 할 수 있다. 이를 위해 최근 몇 년 동안 성장인자들에 대한 연구가 진행되어 왔다. 혈액을 채취하여 두 번의 원심분리를 통해 적혈구와 혈장을 제외시킨 혈액 성분을 혈소판 농축 혈장(Platelet-rich plasma)라 하며 일반 혈액에 비해 혈소판의 농도가 3-4배에 이른다고 보고되고 있다⁸⁾. 이런 농축 혈소판에서 Platelet derived growth factor(PDGF), Transforming growth factor- β 1(TGF- β 1), β 2(TGF- β 2), Insulin growth factor(IGF)의 골 성장인자가 확인되었으며 PDGF는 혈소

*교신 저자: 홍기석, 충남 천안시 신부동 단국대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호: 330-716
E-mail: periohong@dankook.ac.kr

관 응집 후 일어나는 국소적 작용에 의하여 골 형성과 창상치유에 주로 관계하는 것으로 알려져 있다⁹⁻¹⁰⁾. TGF- β 는 골 재생을 개시할 뿐만 아니라 골 이식체의 성숙과 재형성을 포함한 장기간의 치유와 골 재생을 촉진시키며¹¹⁻¹³⁾, IGF는 조골세포의 수를 늘려서 골 침착을 촉진하기 위해 골이 형성되는 동안 조골 세포에 의해 분비되는 성장인자로 알려져 있다. 혈소판 농축 혈장과 골 이식체를 사용한 것이 혈소판 농축 혈장 없이 골 이식한 것보다 더 성숙된 상이 보였다고 보고되고 있으며 혈소판 농축 혈장의 진정한 임상적 가치는 골의 형성을 빨리 할 수 있다는 것이다¹⁴⁾.

또한 치주 조직 재생을 위한 다른 인자로는 최근에 새로운 개념이 도입되어 임상에서 사용되고 있는 법랑 기질 단백질인데, 이는 수산화 인회석이나 다른 세포에 대한 부착력을 가지는 법랑 모세포와 수산화 인회석 결정의 형성과 성장을 조절하는 역할을 하는 세포의 기질 단백질인 amelogenin을 포함하는 것으로, 미분화된 간엽세포를 자극하여 법랑모세포로 분화시켜 법랑질 형성을 유도하여 치조골을 재생시킨다¹⁵⁾. 이러한 법랑 기질 단백질의 장점으로는 치근 흡수나 유착 또는 이물반응 등의 조직 부작용이 없으며 재생된 치주인대의 질이나 양은 원래의 것과 유사하다고 하였다. Rasperini¹⁶⁾ 등은 치주 재생 치료에 법랑 기질 단백질을 사용한 후 임상적으로 양호한 치유를 보였다고 하였으며, Martu¹⁷⁾ 등은 치주적 골 결손에 법랑 기질 단백질을 적용한 후 16개월 후의 방사선적 양호한 결과를 보였다고 하였다. 또한 법랑 기질 단백질 적용 후 8개월과 16개월 후 임상적 부착 증가 및 방사선적 골 획득을 보였다고 하였다.

이에 본 연구는 치주조직 재생이 힘들다고 알려진 성견 3급 이개부 결손에 이종골과 혈소판 농축 혈장 및 법랑 기질 단백질을 이식하여 2주, 4주, 8주의 조직학적 검사를 통해 새로운 결체 조직과 골 생성을 평가하여 혈소판 농축 혈장과 법랑 기질 단백질이 골 재생에 미치는 영향을 관찰해보고자 하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상 및 재료

생후 12개월에서 16개월이 된 체중 15kg 내외의 beagle dog 6마리를 사용하였고, 실험 시작 전 전신적 질환이 없는 건강한 상태였다. 법랑 기질 단백질은 Enamel Matrix Derivative 30mg/ml Propylene Glycol Alginate in aqueous solution (Emdogain[®] Gel, Biora, Sweden)을 사용하였고, 골 이식체는 이종골에 Ca-P를 박막 처리한 Bovine derived Bone Powder(Biocera[®], Oscotec, Korea)를 사용하였으며 원심분리기는 임상에서 쉽게 사용할 수 있도록 농축 혈소판 제작용 원심분리기(Placon[®], Oscotec, Korea)를 사용하였다.

2. 연구방법

1) 실험 동물의 준비

실험 동물은 Ketamine HCl(Ketalar, 유한양행, 한국) 0.2 ml/Kg을 근육 주사하여 진정시킨 후 5% 포도당 주사액(100 cc/hour, IV)을 외과적 술식이 끝날 때까지 투여하였다. 마취를 유지하기 위하여 Ketamine HCl(0.1 ml/Kg, IV)과 Xylazine HCl(Rompun, 한국 바이엘, 0.1 ml/Kg, IM)을 평균 20분 간격으로 번갈아 투여하였다.

2) 외과적 수술

실험군으로 선정된 각각의 성견에서 10ml의 혈액을 채취하여 1.5ml의 씨티지[®](한국 유니티드제약, Korea)용액이 들어있는 튜브에 넣어 응고를 방지하였다. 채취된 혈액을 원심분리기를 이용하여 3분 동안 2000xg로 원심 분리하여 상층의 혈장과 하층의 적혈구 층으로 나뉘면 Glison 피펫을 이용하여 상층만 분리한 후 5분간 5000xg로 원심 분리하였다. 최상층의 혈장과 여분의 적혈구를 제외한 상층의 혈소판 농축 혈장 층을 분리하여 혈소판 농축 혈장을 준비하였다. 성견 하악 2,3,4소구치 부위에 백악 법랑

경계에서부터 8mm의 3급 이개부 결손을 인위적으로 high speed bur와 chisel, currette으로 형성하고 치근 활택술을 시행하였다. 대조군은 결손부에 Biocera[®]만 이식하였고, 실험 1군에는 Biocera[®]와 Platelet-rich plasma(PRP)를, 그리고 실험 2군에는 Biocera[®]와 Emdogain[®]을 이식하였다. 수술이 끝난 후 5일간 하루 2회 Gentamicin sulfate(KW Gentamicin Inj[®], Kun-Wha Korea, 5mg/kg IM)와 Phenyl butazone(Arthridine[®], Virback Korea, 20-30ml, IM)를 투여하고 유동식을 주었다.

3) 조직병리학적 검사

① 표본제작

실험동물은 2주, 4주, 8주 후에 희생시켰다. 적출한 조직을 10% formalin에 5일간 고정시키고 5% Nitric acid로 4주간 탈회하였다. 충분히 탈회가 이루어진 뒤 통법에 따라 상등농도 에탄올로 탈수과정을 거쳐 파라핀 포매(Leica EG 1160)하고 마이크로 톰(Leica)을 이용하러 5 μ m두께로 절편을 제작하여 Hematoxylin-Eosin과 Gomori's trichrome 염색을 하고 광학현미경을 이용하여 검경하였다.

② 조직 계측학적 분석

(Histomorphological analysis)

4주와 8주의 대조군, 실험 1군, 실험 2군에서 채취한 시편을 Image pro plus ver 3.0을 이용하여 각각의 재생된 면적을 계산하였다.

3. 통계처리

Windows Version 10.0 SPSS를 이용하여 각군의 측정된 수치의 평균치와 표준편차를 구하고 4주 및 8주의 대조군, 실험 1군, 실험 2군 간의 골생성율을 비교하기 위해서 Mann Whitney test를 사용하였다.

III. 연구결과

1. 조직학적 소견

1) 2주

① 대조군

전체적으로 실험 2군과 비슷한 양상을 이었다. 이식재는 치밀하지 않은 결합조직으로 둘러 싸여있었고 이식재 주변부와 결합조직 내에서 소량의 염증성 세포의 침윤이 확인되었으며 신생골 형성은 관찰되지 않았다

② 실험 1군

결손부 내에는 성긴 결합조직으로 둘러쌓인 이식재가 관찰되었으며 결합조직 내 염증성 세포의 침윤이 관찰되었다(Figure 2).

③ 실험 2군

결손부 내 이식재 주변부의 결합조직에서는 염증성 세포의 침윤이 확인되었으며 결손부에 이식된 이식재는 성긴 결합조직으로 둘러싸여 있었고 신생골 형성은 관찰되지 않았다(Figure 3).

2) 4주

① 대조군

신생골 형성은 조직표본에 따라 다르지만 결손부 하방과 결손부내 일부에서 신생골 형성이 확인되었다(Figure 4). Notch 부분에서 신생 백악질이 새롭게 형성되었으며, 치주인대는 치아 장축에 평행하게 주행하고 있었다.

② 실험 1군

결손부 하방, 치조골과 근접 지역에서는 신생골 형성을 확인할 수 있다. 2주와 비교하여 이식재 주변부의 결합조직은 더욱 치밀해 졌으며 결합조직 내 염증성 세포의 양은 많이 줄어들었다. 신생골이 만들어 지는 집경지역은 얇은 백악질과 치주인대가 재생되고 있다(Figure 5).

③ 실험 2군

이식재 주변부에 신생골 형성은 관찰되고 있지 않았고, Notch 지역에서는 조골세포와 신생 백악질이 확인되었다. 치주인대의 형성은 실험 1군과 유사한 양상을 보이며 결손부 하방을 제외하고는 재생 중인 치주인대를 확인할 수 없으며, 결손부 내 염증성 세포의 침윤은 그 양은 줄어들었지만 잔존하고 있다.

3) 8주

① 대조군

전체적으로 실험 2군과 비슷한 양상을 나타내고 있다. 결손부의 많은 부분이 신생골로 채워졌으며, 새롭게 형성된 신생골은 이식재와 연결된 구조를 하고 있다(Figure 6). 치주인대는 치밀한 교원섬유와 많은 혈관이 분포한 기능적 배열을 확인할 수 있으며 백악질 형성은 4주에 비해 더욱 성숙된 모습을 하고 있다. 결손부 내 염증성 세포는 더 이상 확인되지 않는다.

② 실험 1군

이식재 주변과 결손부 하방에서 신생골 형성이 많이 관찰되고 있으며 치관부까지 신생골 형성이 많이 성장하였다. 치주 인대는 치밀한 교원섬유와 많은 혈관이 분포한 기능적 배열을 확인할 수 있으며 백악질 형성은 4주에 비해 더욱 성숙된 모습을 하고 있다. 결손부 내 염증성 세포는 더 이상 확인되지 않는다(Figure 7).

③ 실험 2군

신생골 형성은 4주에 비해 이식재 주변부와 결손부 하방에서 많이 관찰되고 있으며 치밀한 결합조직에 의해 서로 연결된 것처럼 관찰되어지며 결손부 하방에서 신생골은 기존골에 둘러싸여 서로 연결되어 관찰되어 지고 있다(Figure 8). 치주인대는 정상적 치주인대에서 보이는 치밀 교원섬유와 많은 섬유아세포와 혈관들로 구성되어지는 양상을 보이고 있으며 백악질 형성은 4주에 비해 조금 더 성숙되었지만 여전히 결손부 하방을 제외하고는 덜 성숙된 모습을 하고 있다(Figure 9).

2. 조직계측학적 소견

골 생성율의 평균값은 4주에서 대조군이 $18.0 \pm 7.87\%$, 실험 1군은 4.05 ± 7.25 , 실험 2군은 $19.33 \pm 5.15\%$ 로 측정되었으며, 8주에서는 대조군, 실험 1, 2군 각각 $21.89 \pm 1.58\%$, $38.82 \pm 3.2\%$, $37.65 \pm 9.22\%$ 로 측정되었다(Table 1, Figure 1)

3. 통계학적 분석

4주, 8주 모두에서 대조군과 실험 1군 비교 시, 실험 1군에서만 유의한 차이를 보였으며, 실험 1군과 실험 2군의 비교 시에는 4주에서만 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). 8주에는 대조군과 실험 2군과 유의한 차이를 보였고($p < 0.05$), 실험 1군과 실험 2군과는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

Table 1. Mean of new bone formation rate between control and experimental group

| | 대조군 | 실험 1군 | 실험 2군 |
|----|--------------------|-------------------|--------------------|
| 4주 | $18.09 \pm 7.87\%$ | $4.05 \pm 7.25\%$ | $19.33 \pm 5.15\%$ |
| 8주 | $21.89 \pm 1.58\%$ | $38.82 \pm 3.2\%$ | $37.65 \pm 9.22\%$ |

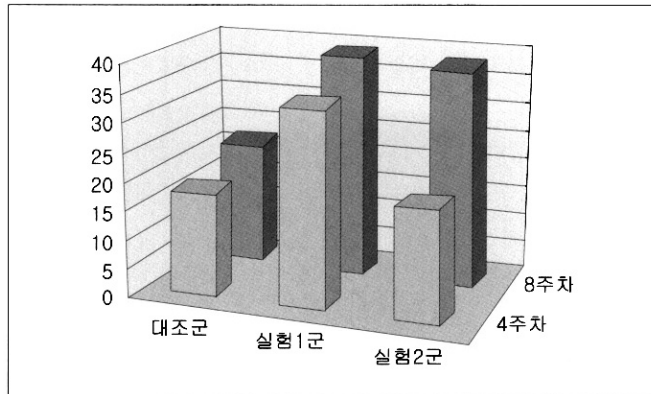


Figure 1. Mean of new bone formation rate between control and experimental group

Table 2. Statistical difference of the ratio of new bone formation rate between each group in 4 weeks (*:p<0.05)

| 4 weeks | Control group(BBP) | Experimental froup I (BBP+PRP) | Experimental froupII (BBP+EMD) |
|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Control group (BBP) | | | |
| Experimental group I (BBP+PRP) | * | | |
| Experimental groupII (BBP+EMD) | | * | |

Table 3. Statistical difference of the ratio of new bone formation rate between each group in 8 weeks (*:p<0.05)

| 8 weeks | Control group(BBP) | Experimental froup I (BBP+PRP) | Experimental froupII (BBP+EMD) |
|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Control group (BBP) | | | |
| Experimental group I (BBP+PRP) | * | | |
| Experimental groupII (BBP+EMD) | * | | |

IV. 총괄 및 고찰

치주 질환을 치료하는 전통적인 방법은 질환의 진행을 정지시키거나 지연시키는 것에 초점이 맞추어졌으며, 이 후 이러한 형태의 치료에 있어 계속된 성공과 질환 진행의 명확한 이해로 인해 치조골, 치주인대, 백악질로 구성된 치주조직의 재생이 치주 치료의 주된 목적 중의 하나가 되었다. 현재는 골 이식과 조직유도 재생술이 치주 재생 술식의 주류를 이루고 있는데, 이러한 치료법은 어떤 특정 환경에서는 치주 조직의 부분적 회복을 얻을 수 있으나 더욱 예견성 높고, 사용이 쉬우며, 효과가 큰 새로운 치료법의 개발에 대한 필요성은 여전히 남아있다. 이러한 치조골, 백악질, 치주인대 등으로 이루어진 치주조직의 재생을 위해 골 이식술^{18,19)}, 치근면 처치술^{20,21)}, 조직유도재생술^{22,23)}, 성장인자를 이용하는 방법^{14,25)}, 성장인자를 이용한 조직유도 재생술²⁶⁾ 등의 많은 연구가 있었다. 또한 Rasperini¹⁶⁾ 등의 연구 결과에서 보듯이 18개월 후에 재생이 되는 것으로 보아 비록 성견의 조직 치유가 빠르기는 하나 8주는 실험 기간이 짧았고, 재생된 면적도 4주에서 8주로 가면서 급격히 증가하는 것으로 보아 PRP군과는 다르게 시간이 지남에 따라 재생이 이루어지는 것을 짐작할 수 있었다. 현재 혈소판 농축 혈장은 치주조직 재생을 위하여 임상에서 사용되고 있으며 이런 혈소판 농축 혈장에는 PDGF, TGF- β_1 , TGF- β_2 , IGF의 골 성장인자가 포함되어 있음이 확인되었다⁹⁻¹⁰⁾. Lynch 등^{14,25)}은 PDGF와 IGF-1의 혼합물을 이용한 동물실험에서 신생골 및 신생 백악질의 형성이 증가하였다고 보고하였다. 혈소판내의 성장인자들이 작용하기 위해서는 매개체가 필요한데 그러한 매개체로 자가골, 탈회냉동 건조골, 이종골과 합성골 등이 있다. 성장인자들의 골유도, 치주 조직 재생에 대한 질과 양은 이런 매개체의 특성에 의해 좌우된다²⁷⁾. 치근 이개부 결손부의 치료에는 일반적으로 이식재가 사용되는데 이식재의 조건으로 골 형성 및 백악질 형성의 유도 능력이 있으며 숙주 조직에 대하여 친화성이 있어야 한다²⁸⁻²⁹⁾. 이러한 이식재의

특성을 가진 것으로는 Platelet-rich plasma와 비흡수성 혹은 흡수성 막 그리고 범랑 기질 단백질 등이 있는데 이중 범랑 기질 단백질은 미분화된 간엽세포가 치주 결손부 주변에 존재하는 백악 모세포를 분화시켜 백악질 형성을 유도하여 골을 재생하게 되는데 이는 치근 흡수, 치아 유착 등의 부작용이 없는 생체 적합성이 있는 재료로 최근 임상에서 자주 사용되고 있다. Hammarstrom은 원숭이에 범랑 기질 단백질을 적용하여 치주 조직 재생을 시도한 결과 8주 후에 치근면에 단단히 부착된 약 60-70% 정도의 무세포성 백악질 재생을 관찰하였고³⁰⁾, Donos와 Karring³¹⁾ 등은 원숭이의 치아에 인위적으로 형성한 3급 이개부 결손에 범랑 기질 단백질을 사용하여 조직학적 검사를 한 결과 신부착과 신생골 형성을 보였다고 하였다. 본 연구에서도 범랑 기질 단백질을 사용한 실험 2군에서 신부착과 신생골 형성을 보였으나, 골 생성율이 4주에서 19.33%, 8주에서는 37.65% 정도로 미약하여 임상적으로 3급 이개부의 완벽한 재생을 기대하기는 어렵다고 생각되었다. 현재 혈소판 농축 혈장은 치주조직 재생을 위하여 임상에서 사용되고 있으며 이런 혈소판 농축 혈장에는 여러 골 성장인자가 확인되었는데³²⁻⁴²⁾ 이러한 성장인자들은 창상치유과정 중에 일어나는 다양한 세포활성도를 자극하는 생물학적 매개체로써 기능을 하는 폴리펩타이드이다. 또한 섬유아세포의 증식, 화학주성, 그리고 기질성분의 합성 등을 자극한다. Howell 등⁴⁴⁾은 PDGF-BB와 IGF-I을 조합해서 치주수술 중에 치주적 골 결손부에 도포 되었을 때 안전하였고 치주결손부의 충전과 골 성장에 있어 도포 안 되어 있는 것에 비해 더욱 효과적인 향상을 보여주었다. Tayapongsak 등⁴⁵⁾은 하악재건술에 사용하여 자가 피브린 접착제를 해면골에 첨가시켜, fibrin network를 만들어 방사선사진에서 빠른 골 경화를 보여주었고, Marx 등⁴⁶⁾은 임상연구를 통하여 한 집단은 단순한 골 이식만, 다른 집단은 골 이식과 함께 혈소판 농축 혈장을 사용하였을 때 혈소판 농축 혈장 사용 시 초기 6개월 동안 골 형성 속도와 골 형성 정도가 가속화되었고 이러한 혈소판

농축 혈장은 환자 본인에서 채득한 것이므로 질병의 전이나 면역반응이 없고 임상적으로 우수하다고 보고하였다. 또한 임 등의 논문에서는 성견에서 Biocera®와 PRP사용 시 4주만에 골의 완전한 재생이 이루어진다고 하였으나 성견 2급 치근 이개부 결손 이었고 본 실험은 치주조직 재생이 힘들게 하기위해 백악 법랑 경계부에서 8mm의 결손부를 인위적으로 형성시킨 3급 이개부 결손이므로 조직학적이거나 임상적으로 주는 의미는 다르다고 하겠다⁵³⁾.

이에 본 연구에서는 인위적으로 형성한 성견 3급 치근 이개부 결손부에 송아지 뼈에서 추출한 탈단백 무기질 골로 이중골인 Biocera®와 혈소판 농축 혈장 및 법랑 기질 단백질을 함께 이식하여 혈소판 농축 혈장과 법랑 기질 단백질을 함께 이식하여 혈소판 농축 혈장과 법랑 기질 단백질을 골 재생에 미치는 영향을 조직학적으로 알아내고자 실험하게 되었는데 이번 연구를 통해서 혈소판 농축 혈장과 이중골을 함께 이식한 경우 이중골 단독으로 사용할 때보다 조직학적으로 골 재생에 있어 긍정적인 효과를 미쳤음을 알 수 있었고, 술 후 4주까지는 법랑 기질 단백질과 이중골을 함께 이식한 경우보다 골 생성율이 더 뚜렷하였다. 하지만, 술 후 8주에는 혈소판 농축 혈장과 이중골을 함께 이식한 경우와 법랑 기질 단백질과 이중골을 함께 이식한 경우의 골 생성율에 있어서 유의한 차이가 없었다. 또한 실험 1군 8주에서는 치주인대가 기능적으로 배열되며 백악질은 세포성으로 성숙되었고 실험 2군 8주에서는 정상 치주인대로 보이며 백악질은 1군보다 덜 성숙되는 무세포성이 보였다. 이는 법랑 기질 단백질이 조직학적으로 골 재생 효과를 나타내기 시작하는 시기가 술 후 8주 이후이고, 그 이후의 골 생성율에 있어서 혈소판 농축 혈장을 이식한 경우와 법랑 기질 단백질의 골 재생에 대한 효과는 좀 더 장기적인 조직학적 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

V. 결론

본 연구는 성견 3급 이개부 병변에 이중골(Biocera®)과 혈소판 농축 혈장 및 법랑 기질 단백질로

이식한 후 술 후 2주, 4주, 8주의 소견을 조직학적 검사를 통해 혈소판 농축 혈장과 법랑 기질 단백질이 골 재생에 미치는 영향을 알아보기 위함이었다. 인위적으로 치근 이개부 병변을 형성하여 대조군은 이중골 이식만을, 실험 1군은 이중골과 혈소판 농축 혈장을 함께 이식하였고, 실험 2군은 이중골과 법랑 기질 단백질을 함께 이식하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 2주에서는 대조군, 실험 1,2군 모두에서 염증성세포의 침윤이 관찰되었고 신생골 형성은 관찰되지 않았다.
2. 대조군 4주에서는 notch부위의 신생백악질이 보이며 치아 장축에 평행하게 주행하는 치주인대를 관찰할 수 있었고, 8주에서는 백악질 형성은 좀더 성숙된 양상이지만 많은 재생은 관찰할 수 없었다.
3. 실험 1군 4주에서는 치조골 근접지역에서 신생골 형성을 관찰할 수 있었고 이식재 주위의 결합조직은 더욱 치밀해 졌으며 8주에서는 치관부까지 신생골의 형성이 관찰되었고 치주인대는 기능적으로 배열되며 백악질은 더욱 성숙되었다.
4. 실험 2군 4주에서는 결손부 하방에서 신생골이 확인되며 신생백악질의 형성이 보인다. 8주에서는 신생골 형성이 이식재 주변에서도 관찰되며 치주인대는 정상 치주인대에서 보이는 치밀한 교원섬유와 많은 섬유아세포, 혈관으로 구성되는 양상이 보이며 백악질은 실험 1군에 비해 덜 성숙되어 보이나 무세포성으로 보인다.
5. 조직계측학적 결과 골 생성율은 4주에서는 대조군, 실험 1,2군에서 각각 18.0 ± 7.87 , 34.05 ± 7.25 , $19.33 \pm 5.15\%$ 이었고 8주에서는 21.89 ± 1.58 , 38.82 ± 3.2 , $37.65 \pm 9.22\%$ 로 측정되었다.
6. 실험 1군은 4주에서 실험 2군은 8주에서 유의성 있는 높은 골 생성율을 보였고 실험 1군과 2군의 비교 시, 4주에서 실험 1군이 실험 2군

에 비하여 높은 골 생성율을 보였다(P<0.05).

이상의 결과, 술 후 4주까지는 혈소판 농축혈장의 골 재생 효과가 뚜렷하며 범랑 기질 단백질은 술 후 8주 이후에 유의성 있는 골 재생 효과를 나타낼 것으로 사료되었다.

VI. 참고문헌

1. Kazuhiro Okuda, Manabu Momose, Akira Miyazaki, Masashi Murata, Shigeru Yokoyama, Yukari Yonezawa, Larry F. Wolff, Hiromasa Yoshie. Enamel Matrix Derivative in the treatment of human intrabony osseous defects. *J Periodontol* 2000;71:1821-1828.
2. Hideaki Hirooka. The biologic concept for the use of enamel matrix protein: True periodontal regeneration. *Quintessence international* 1998;29:621-630.
3. 치주과학교수협의회: 치주과학(The text book of periodontology), 4판, 군자출판사, 2004.
4. MG. Newman, HH Takei, FA Carranza : *Clinical Periodontology*, ed 9. Philadelphia, W. B. Saunders Co, 2002.
5. James T. Mellonig : Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: Technique and clinical and histologic case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999;19:9-19.
6. Terranova VP, Hick S, Franzetti L, Lyall RM, Wikesjö VME. : A biochemical approach to periodontal regeneration, Assay for specific cell migration. *J Periodontol* 1987;58:247-259.
7. Terranova VP, Franzetti LC, Hick S, Wikesjö VME. : Biochemically mediated periodontal regeneration. *J Periodontol* 1987;22:248-251.
8. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RH, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR: Platelet-rich plasma : Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1998;85:638-646.
9. Canalis E, Mc Carthy TL, Centrella M. : The role of growth factors in skeletal remodelling. *Endocrinol Meta Clin North Am* 1989;18:903-912.
10. Antoniades HN, Scher CD, Stiles CD. : Purification of human platelet-derived growth factor. *Cell Biol* 1979;76:1809-1813.
11. Pfeilschifter J, Oechsner M, Naumann A, Gronwald RGK, Minne HW, Ziegler R : Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors : A comparison between insulin-like growth factor I, platelet-derived growth factor, and transforming growth factor. *Endocrinology* 1990;127:69-75.
12. Lynch SE, Colvin RB, Antoniades HN : Growth factors in wound healing : Single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. *J Clin Invest* 1989;84:640-646.
13. Postlethwaite AE, Jorma KO, Moses HL, Kang AH. : Stimulation of the chemotactic migration of human fibroblasts by transforming growth factor. *J Exp Med* 1987;65:251-256.
14. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howell TH, Reddy Ms, Zappa UE, Antoniades HN. : A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1989;16:545-548.

15. A.M. Hoang, R.J. Klebe, B. Steffensen, O.H. Ryu, J.P. Simmen, and D.L. Cochran : Amelogenin is a cell adhesion protein. *J Dent Res* 2002;81:497-500.
16. Rasperini G, Ricci G, Silvestri M : Surgical technique for treatment of infra-bony defects with enamel matrix derivative(Emdogain): 3 case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999;19: 578-587.
17. Martu S, Burlui V, Mocanu C, Fornu N : Periodontal regeneration with enamel derivate proteins(Emdogain)-clinical evaluation. *Rev Med Chir Soc Med Nat lasi* 2000;104:147-151.
18. Stahl, S. Frou, S. : Histologic and clinical responses to porous hydroxylapatite implants in human periodontal defects. *J Periodontol* 1987;58:689-695.
19. Meffert, R. M., Thomas, J. R. : Hydroxylapatite as an alloplastic graft in the treatment of human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1985;56:63-73.
20. Isidor, F., Karring, T. : New attachment formation on citric acid treated roots. *J Periodont. Res.* 1985;20:421-430.
21. Nilveus, R. egelberg, J. : The effect of topical citric acid application of the healing of experimental furcation defects in dogs. The relative importance of coagulum support, flap design and systemic antibiotics. *J Periodont. Res.* 1980 ;15:551-560.
22. Pontoriero, R., Nyman, S., Lindhe, J. : Guided tissue regeneration in surgically produced furcation defects. An experimental study in the beagle dogs. *J Periodontol* 1992;19:159-163.
23. Caffesse, R. G., Smith, B. A. : New attachment achieved by guided tissue regeneration in the beagle dogs. *J Periodontol* 1988;59:589-594.
24. Raymond A. Yukna and James T. Mellonig : Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. *J Periodontol* 2000;71(5):752-759.
25. Lynch SE. : Platelet-derived growth factor and insulin-like growth factor. I. Mediators of healing in soft tissue and bone wounds. *Periodont Case Rep* 1991; 13:13-20.
26. Rutherford, R. B., Hiekrash, C.E. : Platelet-derived growth factor and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. *J Periodont. Res.* 1992;27:285-290.
27. Souyris, F. Coral, a new biomedical materials. *J. Max-fac. Surg* 1985;13:64.
28. Brooks. D.B. Heiple.K.G. et al : Immunological factors in homogeneous bone transplantation. IV. The effect of various methods of preparation and irradiation on antigenicity. *J. bone Joint Surg* 1963 ;45:1617.
29. Turner. D.W. and Mellonig.J.T : Antigenicity of freeze-dried bone allograft in periodontal osseous defects. *J. periodontal Res* 1981;16:89-99.
30. Hammarstrom L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol* 1997;24:658-668.
31. Donos N, Sculean A, Glavind L, Reich

- E, Karring T : Wound healing of degree III furcation involvements following guided tissue regeneration and/or Emdogain. A histologic study. *J Clin Periodontol*. 2003;30:1061-1068.
32. Terranova VP, Hick S, Franzetti L, Lyall RM, Wikesso VME. : A biochemical approach to periodontal regeneration, AFS CM, Assay for specific cell migration. *J Periodontol* 1987;58:247-259.
 33. Terranova VP, Franzetti LC, Hick S, Wikesjö VME. : Biochemically mediated periodontal regeneration. *J Periodont Res* 1987;22:248-251.
 34. Rutherford RB, Trilsmith MD, Ryan HE and Charette MF.: Synergistic effects of dexamethasone on platelet-derived growth factors mitogenesis in vitro. *Arch Oral Biol* 1992;37:139-145.
 35. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI and Genco RJ.: Mitogenic chemotactic and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol* 1992;63:515-525.
 36. Oates TW, Rouse CA, Cochra DI : Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. *J Periodontol* 1993;64:142-148.
 37. Giannobile WV, Finkelman RD, Lynch SE : Comparison of canine and non-human primate animal models for periodontal regenerative therapy: Results following a single administration of PDGF/IGF-I. *J Periodontol* 1994;65:1158-1168.
 38. Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM, de Crombrughe B.: Some recent advances in the chemistry and biology of TGF- β . *J Cell Biol* 1987;105:1039-1045.
 39. Keski-Oja J, Leof EB, Lyons RM, Coffey RJ, Jr. Moses HL.: Transforming growth factor and control of neoplastic cell growth. *J Cell Biochem* 1987;33:95-107.
 40. Antosz ME, Bellows CG, Aubin JE.: Effects of TGF- β and epidermal growth factor on cell proliferation and the formation of bone nodules in isolated fetal rat calvaria cells. *J Cell Physiol* 1989;140: 386-393.
 41. Centrella M, McCarthy TL, Canalis E. : TGF- β is a bifunctional regulator of replication and collagen synthesis in osteoblast-enriched cell cultures from fetal rat bone. *J Bio Chem* 1987;262: 2874-2896.
 42. Subburaman Mohan : Bone growth Factors. *Clinical Orthopaedics and related research* 1991;263:30-48.
 43. Moon-Il Cho, Wen-Lang Lin : Platelet-Derived Growth Factor-Modulated Guided Tissue Regenerative Therapy. *J Periodontol* 1995;66:522-530.
 44. Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW.: A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 1997;68:1186-1193.
 45. Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LL.: Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg* 1994;52

- :161-166.
46. Lekovic, V., Kenney, E. B., Carranza, F. A., Martignoni, M. : The use of autogenous periosteal grafts as barriers of the treatment of class II furcation involvements in lower molars. *J Periodontol* 1991;62:775-780.
 47. Machtei, E. E., Cho, M. I., Dunford, R., Norderyd, J., Zambon, J. J., Genco, R. J. : Clinical, microbiological, and histological factors which influence the success of regenerative periodontal therapy. *J Periodontol* 1994;65:154-161.
 48. Metzler, D. G., Seamons, B. C., Mellonig, J. T., Gher, M. E., Gray, J. L. : Clinical evaluation of guided tissue regeneration in the treatment of maxillary class II molar furcation invasions. *J Periodontol* 1993;62:353-360.
 49. Venezia E, Goldstein M, Schwartz Z : The use of enamel matrix derivative in periodontal therapy. *Refuat Hapeh Vehashinayim* 2002;19:19-34,88
 50. Sculean A, Chiantella GC, Windisch P, Gera I, Reich E : Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative (Emdogain) combined with a bovine-derived xenograft(Bio-Oss) for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2002;22:259-267.
 51. Velasquez-Plata D, Scheyer ET, Mellonig JT. Clinical comparison of an enamel matrix derivative used alone or in combination with a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol* 2002;73:433-440.
 52. Scheyer ET, Velasquez-Plata D, Bruns-vold MA, Lasho DJ, Mellonig JT. A clinical comparison of a bovine-derived xenograft used alone and in combination with enamel matrix derivative for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol* 2002;73:423-432.
 53. 임성빈, 이광수, 박영채, 유형근, 신형식. 성견 2급 이개부 병변 치료 시 이종골 이식 및 혈소판 농축 혈장의 골 재생에 관한 연구. 대한치주과 학회지 2000;30:257-275.

사진 부도 설명

- Figure 2. 실험 1군 2주(H.E stain, × 40)
결손부 내 염증성세포를 포함한 성긴 결합 조직과 이식재
- Figure 3. 실험 2군 2주(H.E stain, × 40)
결손부 성긴 결합 조직과 이식재
- Figure 4. 대조군 4주(Gomori stain, × 12)
- Figure 5. 실험 2군 4주(H.E stain, × 40)
결손부 하방 신생골 형성 및 결손부 내 치밀해진 결합조직
- Figure 6. 대조군 8주(H.E stain, × 40)
이식재 주위와 결손부내 신생골
- Figure 7. 실험 1군 8주(H.E stain, × 200)
성숙된 신생 백악질과 굵은 섬유다발로 이루어진 치주인대
- Figure 8. 실험 2군 8주(H.E stain, × 12)
- Figure 9. 실험 2군 8주(H.E stain, × 100)
Notch 부근의 신생 백악질과 잘 발달된 교원섬유로 이루어진 치주인대

사진부도



Figure 2.



Figure 3.

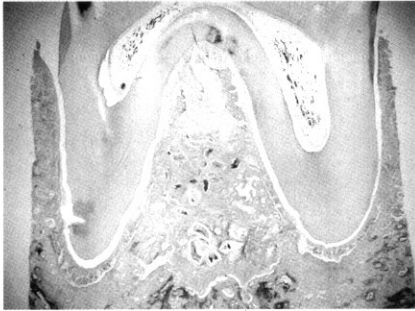


Figure 4.

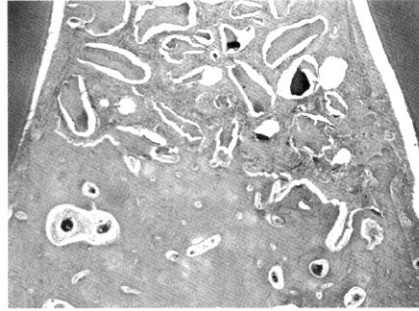


Figure 5.

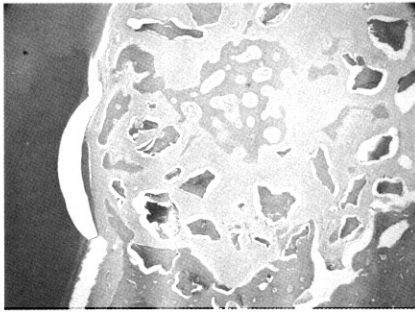


Figure 6.

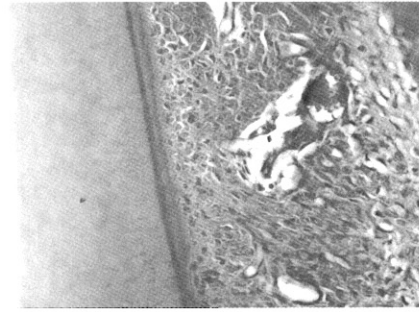


Figure 7.

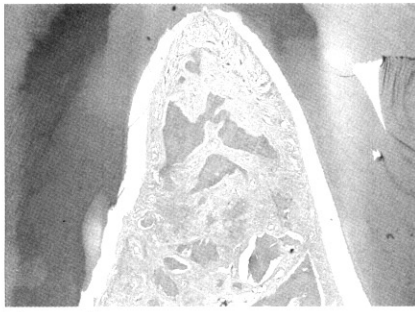


Figure 8.

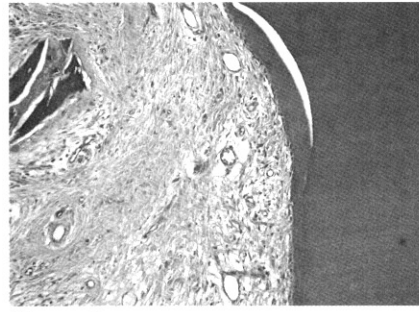


Figure 9.

The Regenerative effects of Platelet-Rich Plasma and Enamel Matrix Protein on Grade III Furcation defects in beagle dogs

Young-Jun Kim · Sung-Bin Lim · Chin-Hyung Chung · Ki-Seok Hong

Department of Periodontology, College of Dentistry, Dan-Kook University

The purpose of this study was to study the histopathological correlation between the use of platelet-rich plasma and enamel matrix protein used in conjunction with xenograft, compared to a control group with regards to bone regeneration at the grade III furcation area in beagle dogs. Control group was treated with bovine derived bone powder(Biocera[®]), and experimental I group was treated with bovine derived bone powder and Platelet-rich plasma and experimental II group was treated with bovine derived bone powder and Enamel matrix protein(Emdogain[®]).

The regeneration rate of bone formation was observed and compared histopathologically at 2, 4, and 8 weeks after surgery.

The results were as follows:

1. In control group and both experimental groups, inflammatory cells were observed but, new bone formation wasn't.
2. In control group, new cementum on the notch was found in 4 weeks, less mature periodontal ligament when compared to that of experimental group was found and cementum formation was great but, regeneration couldn't be seen in 8 weeks.
3. Experimental I group, new bone formation in the area adjacent to alveolar bone and graft material surrounded by more dense connective tissue were found in 4 weeks. New bone formation up to crown portion was found and periodontal ligament was aligned functionally and cementum more mature.
4. Experimental II group, new bone formation was found under the defect area in 4 weeks and new bone formation around graft material in 8 weeks, too, and there were a number of fibroblasts, blood vessels, acellular cementum, which was less mature when compared to that of experimental I group, and dense collagen fiber like which normal periodontal ligament has in periodontal ligament of experimental II group in 8 weeks.

5. As a result of histologic finding, bone formation rate were $18.0 \pm 7.87\%$ (control group), $34.05 \pm 7.25\%$ (experimental I group), $19.33 \pm 5.15\%$ (experimental II group) in 4 weeks and $21.89 \pm 1.58\%$ (control group), 38.82 ± 3.2 (experimental I group), $37.65 \pm 9.22\%$ (experimental II group) in 8 weeks.
6. Statistically significant ratio of bone formation was observed in experimental I group in 4 weeks and in experimental II group in 8 weeks. When experimental I group was compared to experimental II group, the ratio of bone formation in experimental I group was higher than that in experimental II group in 4 weeks ($p < 0.05$).

This results suggest that platelet-rich plasma showed more new bone formation than enamel matrix protein within 4 weeks. And use of enamel matrix protein in the treatment of periodontal bone defects starts to enhance regeneration after 8 weeks in beagle dogs.