

가토의 두개골 결손부에서 골재생에 미치는 골막의 역할

장연선^{1,3} · 김상목¹ · 박주철^{2,3} · 김병옥^{1,3,*}

¹조선대학교 치과대학 치주과학교실

²조선대학교 치과대학 구강조직학교실,

³조선대학교 치과대학 구강생물학연구소

I. 서론

골유도재생술은 조직유도재생술의 생물학적 원리를 토대로 하여 발달되어 왔는데, 현재는 열개나 천공과 같은 골결손을 가지고 있는 임플란트에서 신생골 형성을 증진시키기 위하여, 발치 후 즉시 임플란트를 식립한 후에 임플란트와 잔존골 사이의 공간을 채우기 위하여, 발치 후에 골이 흡수되는 것을 예방하기 위하여, 그리고 치조제가 수평 또는 수직으로의 골결손부를 가지고 있는 경우 등 임플란트 치료에 많이 응용되어 사용되고 있다¹⁻³⁾.

임플란트 주위의 골결손부에 이용되는 골이식술은 골형성, 골유도, 그리고 골전도와 같은 서로 다른 과정들을 통해서 이루어진다⁴⁾. 골이식재의 골형성 기전은 이식재의 기원과 조성에 좌우되어 결정되는데, 이식술에 이용되는 이식재로는 자가골, 동종골, 그리고 합성골 등으로 대별될 수 있다. 자가골은 이식재의 이상적인 표준으로서 인정되고 있으나 부가적인 수술부위가 필요하다는 점과 골결손부가 큰 경우

에는 만족할 만한 양의 골을 얻을 수 없다는 단점을 가지고 있다. 동종골은 자가골 채취와 관련된 불편함을 감소시키고 부가적인 골채취부위를 제거하기 위하여 추천되어 왔고 제조과정 중에서 사용되는 약품 때문에 질병의 전염이 최소화 된다고 보고되었으나 많은 환자들은 여전히 이 재료의 사용을 꺼려하고 있다. 따라서 이러한 단점 때문에 합성골이 많이 이용되고 있는데, 수많은 합성골들 중에서 사람 골의 무기물과 똑같은 치밀한 아파타이트 결정구조(dense apatite crystalline structure)를 가지고 있는 Bio-Oss[®](Geistlich, Wolhusen/Switzerland)는 면역반응을 막기 위하여 완전히 탈탄백질화시킨 무기골(calcium deficient carbonate apatite)로서 임상에서 많이 사용되고 있는 재료이다^{4,5)}. Khalid⁶⁾는 소뼈가 최고의 골전도물질이라고 하였는데 전자현미경으로 관찰하면 인간의 뼈와 거의 유사하며 인간과 소에 있어서 뼈의 압축강도와 탄성계수도 유사하다고 보고되었다.

골막은 관절면을 제외한 골 주위를 둘러싸고 있는

*이 논문은 2004년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음

*교신저자: 김병옥 광주광역시 동구 서석동 421번지 조선대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호 501-759

E-mail: bobkim@chosun.ac.kr

치밀결합조직으로 콜라겐 섬유와 골아세포를 함유하고 있고 혈관과 신경이 풍부하며, 골의 영양, 성장 및 재생을 주관하고 있다. 골막은 혈관이 풍부한 치밀결합조직으로 된 바깥층과, 결합조직의 배열상태가 보다 영성하며 일부 아교섬유가 관통섬유처럼 골속으로 들어가고 있는 속층으로 구성되어 있는데, 성인에 있어서는 골절과 같은 자극이 있을 때 활성화된다고 보고되었다⁷⁻⁹⁾. 그러나, 골절에 관련된 연구를 살펴보면, 골막이 골절 치유에 주요한 역할을 한다고 보고하는 그룹과 안정된 골합성 상태에서는 골치유에 결정적인 역할을 하지 못한다고 하는 그룹 등 골막의 역할에 대해서는 의견이 양립되어 있는 상태이다¹⁰⁾.

치과분야에서는 치과용 연석고나 치아회분말¹¹⁻¹²⁾, calcium sulfate¹³⁾ 그리고 수산화인회석¹⁴⁾ 등과 골막의 역할에 대한 연구가 진행되었는데, Gottlow 등¹⁵⁾은 골막이 골조직재생에 관여하므로 limiting membrane으로서 작용하며 골융합에 중요한 역할을 담당한다고 보고하였다.

이 연구는 임상에서 많이 이용되고 있는 Bio-Oss[®]를 이용하여 골유도재생술을 시행하면서 골막의 존재 유무가 골재생에 끼치는 효과를 평가하고자 토끼의 두개골에 골결손부를 형성한 후 그 효과를 조직학적으로 평가하였다.

II. 연구재료 및 방법

골막이 골재생에 끼치는 영향을 평가하기 위하여 12마리의 토끼(2.8-4kg)를 이용하였는데, Ketamine-HCl(5 mg/Kg)과 Xylazine HCl(1.5 ml/Kg)으로 마취시킨 후털을 깎고 소독을 한 다음 골막을 포함하여 전층판막으로 거상하였다. 6 mm trephine(외경 8 mm, 3i, USA) bur를 이용하여 두개골에 좌우 2개씩 골결손부를 형성하였는데 대조군과 실험군은 무작위로 선택하여 실험을 시행하였다(Figure 1).

대조군은 골결손부를 형성한 후 골이식재를 넣지

않고 비흡수성의 차단막(TefGen Plus, Lifecore Biomedial, Inc. U.S.A.)을 사용한 군, 실험 1군은 골결손부에 Bio-Oss[®]와 비흡수성의 차단막(TefGen Plus, Lifecore Biomedial, Inc. U.S.A.)을 사용한 군, 실험 2군은 골결손부에 Bio-Oss[®]를 넣고 골막을 제거하지 않은 군 그리고 실험 3군은 골결손부에 Bio-Oss[®]를 넣고 골막을 제거한 군으로 선정하였다. 창상은 흡수성 봉합사를 이용하여 봉합하였으며 2일 동안 Gentamicin(0.1 mg/kg)을 피하주사를 하였다.

골막에 의한 Bio-Oss[®]의 초기 골생성 효과를 조직학적으로 평가하기 위하여 수술 1주 후, 2주 후, 그리고 4주 후에 토끼의 정맥 내에 phenobarbital (100 mg/kg)을 주사하여 희생시켰다. 토끼의 두개골을 전층판막으로 거상한 후 reciprocal saw를 사용하여 이식부위를 침해하지 않고 조심스럽게 두개골을 제거하였다.

제거된 두개골 절편을 4% paraformaldehyde 용액에 고정하였으며, 탈화용액(hydrochloric acid, Fisher Scientific, Tustin, CA)에서 2 내지 4주 동안 4°C에서 탈회한 후 통법에 따라 탈수하고 파라핀에 포매하였다. 포매된 절편을 6 μm 두께로 박절하고 Hematoxylin-eosin 염색을 시행한 후 광학현미경으로 골재생 효과를 평가하였다.

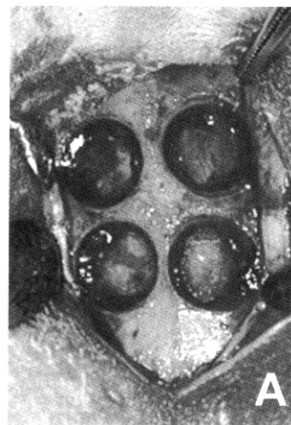


Figure 1. Rabbit cranium with surgical sites prepared.

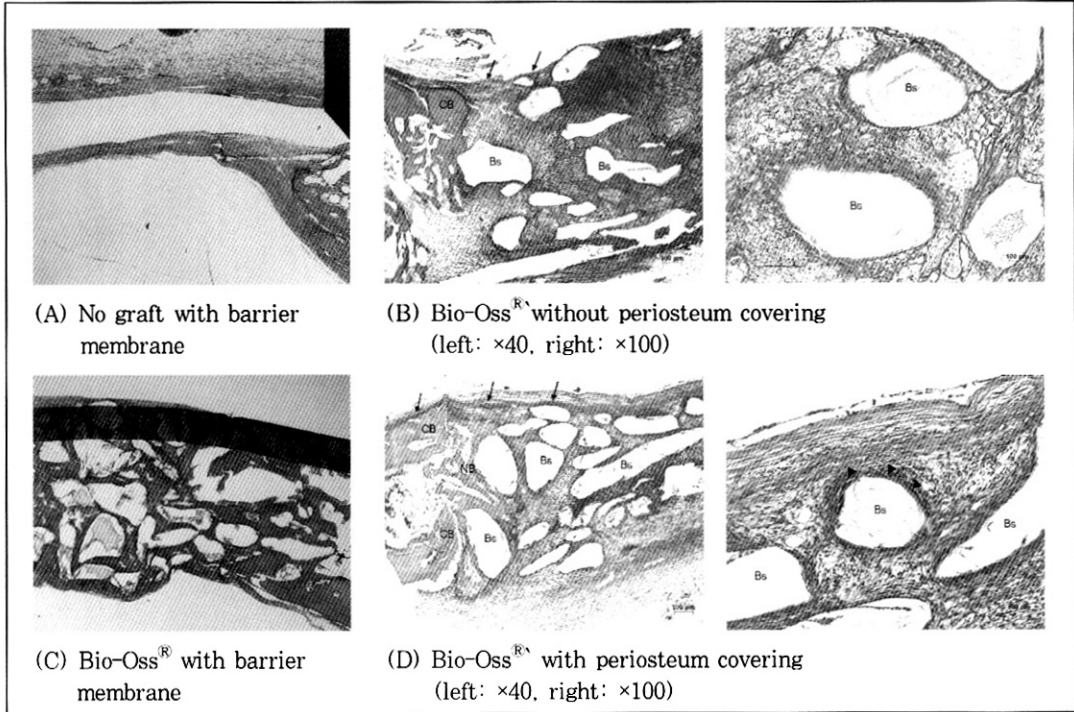


Figure 2. Light micrographs at 1 week postoperatively; No graft with barrier membrane (A), Bio-Oss® without periosteum covering (B), Bio-Oss® with barrier membrane (C), and Bio-Oss® with periosteum covering (D). (H&E ×40, ×100)
 Arrow: periosteum. Bs: Bio-Oss®. CB: cortical bone. NB: new bone.

Ⅲ. 연구결과

이 연구는 Bio-Oss®를 이용하여 골유도재생술을 시행하였을 때 골막의 존재 유무가 골재생에 끼치는 효과를 평가하고자 12마리의 토끼 두개골에 골결손부를 형성한 후 조직학적으로 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 1주 의생근

대조군에서 골결손부는 결체조직으로 채워져 있었으며 골형성 소견은 관찰되지 않았으며(Figure 2A), Bio-Oss®를 이식한 군에서도 전형적인 골형성 소견은 관찰되지 않았으나 골결손부의 가장자리와 골이식재 주변으로 골모세포 전구세포로 보이는 세포들이 모여드는 소견을 보였다(Figure 2C). Bio-Oss

®를 이식한 후 골외막으로 피개한 군에서 피질골과 골결손부는 골외막에 의하여 잘 피개되어 있었으며, 골결손부는 골이식재인 Bio-Oss®에 의하여 잘 채워져 있었으며 골이식재 사이사이에는 염증 반응 없이 결체 조직이 증식되어 있었고, 골 결손부 가장자리 부위에서는 기존 골로부터 소량의 신생골 증식이 관찰되었다. 또한 골이식재 둘레로 골모세포 전구세포와 전골모세포로 보이는 입방형의 세포들이 관찰되었다(Figure 2D). 반면에 Bio-Oss®를 이식한 후 골외막으로 피개하지 않는 군에서 결손부는 골외막에 의하여 피개되어 있지 않았으며, 골결손부는 골이식재에 의하여 잘 채워져 있었으나, 골이식재 사이사이에는 울혈을 포함한 염증성 결체 조직이 증식된 소견을 보였다. 또한 피질골이 절단된 변연 부위나 골결손부에서 신생골의 형성은 거의 관찰되지 않았고, 골이식재의 주위에 염증성 소성 결체조직의

증식과 더불어 림파구와 같은 만성염증세포가 소수 관찰 되었으나, 골모세포 전구세포나 전골모세포 등은 관찰 할 수 없었다(Figure 2B).

2. 2주 의생근

대조군에서 골결손부 가장자리의 피질골로부터 신생골 형성이 관찰되며 이 신생골은 결손부의 중앙을 향해 증진되고 있었다(Figure 3A). Bio-Oss[®]를 이식한 군에서 골결손부의 가장자리와 골이식재 주변으로 신생골이 관찰되었다(Figure 3C). Bio-Oss[®]를 이식한 후 골외막으로 피개한 군에서 골결손부 가장 자리 부위에서는 기존 골로부터 다량의 신생골 증식이 관찰되었으며, 골결손부의 골외막 하방에서도 신생골이 형성되어 있었다. 또한 골결손부의 골이식재 사이사이에서도 골이식재에 합입된 양상의 신생골

형성이 관찰되었으며, 골이식재의 내부로 신생골이 형성되는 소견이 관찰되었다. 그러나 새로 형성된 신생골들은 기존 피질골에 비하여는 성숙되지 않은 미성숙골의 형태였다(Figure 3D). 반면에 Bio-Oss[®]를 이식한 후 골외막으로 피개하지 않는 군에서 골결손부의 변연은 기존 골로부터 소량의 신생골 증식이 관찰되었으나, 골결손부의 골이식재 주위에서의 신생골 형성은 관찰되지 않았으며, 골이식재 둘레로 골모세포 전구세포와 전골모세포들의 출현과 더불어 치밀한 결합조직이 증식된 소견을 보였다(Figure 3B).

3. 4주 의생근

대조군에서 골결손부 가장자리의 신생골 형성은 2주보다 더 많이 관찰되었다. 하지만 골결손부의 중

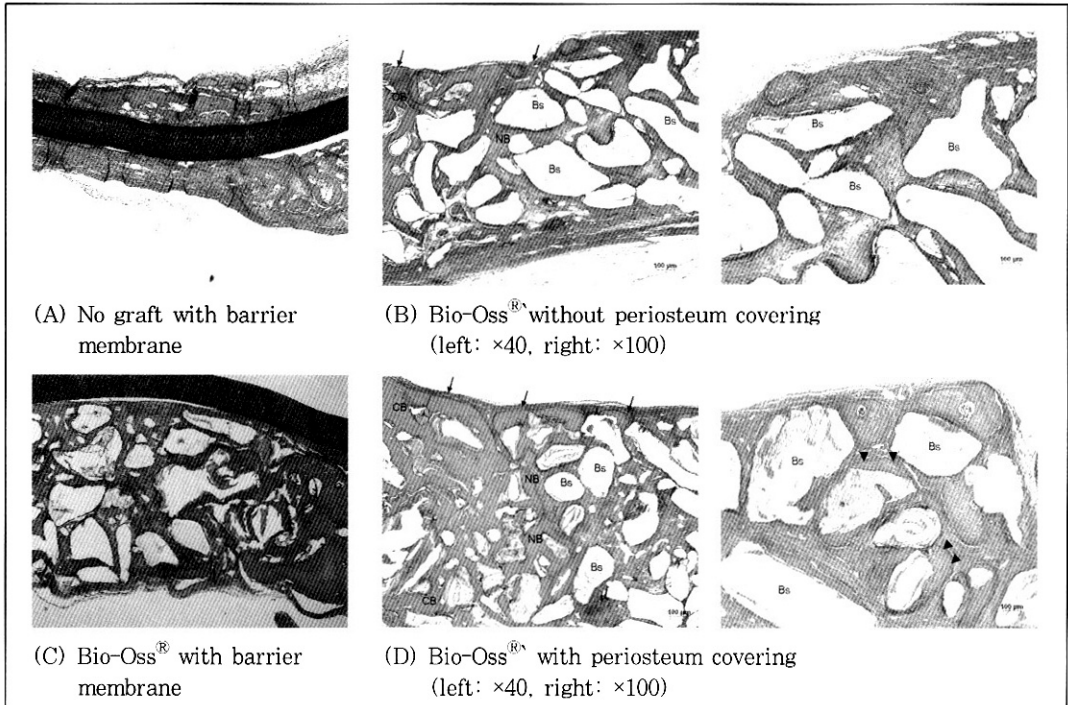


Figure 3. Light micrographs at 2 week postoperatively; No graft with barrier membrane (A), Bio-Oss[®] without periosteum covering (B), Bio-Oss[®] with barrier membrane (C), and Bio-Oss[®] with periosteum covering (D). (H&E ×40, ×100)

Arrow: periosteum. Bs: Bio-Oss[®]. CB: cortical bone. NB: new bone.

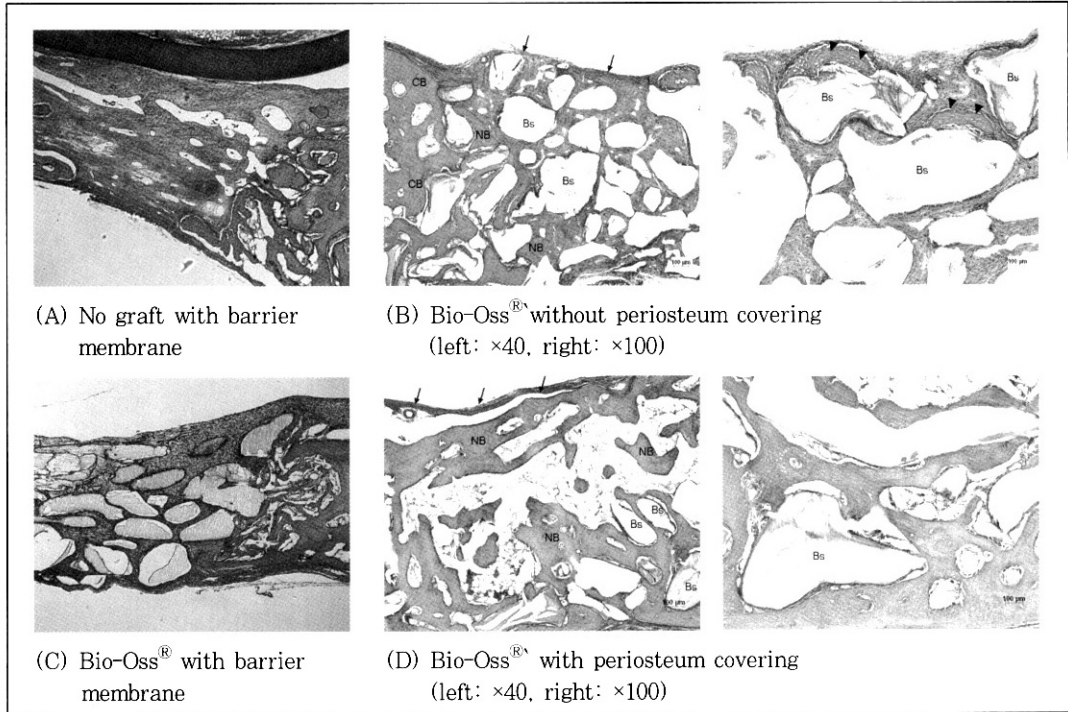


Figure 4. Light micrographs at 4 week postoperatively; No graft with barrier membrane (A), Bio-Oss[®] without periosteum covering (B), Bio-Oss[®] with barrier membrane (C), and Bio-Oss[®] with periosteum covering (D). (H&E ×40, ×100)
 Arrow: periosteum. Bs: Bio-Oss[®]. CB: cortical bone. NB: new bone.

양부위에서는 신생골이 관찰되지 않았다(Figure 4A). Bio-Oss[®]를 이식한 군에서 골결손부의 자장 자리와 골이식재 주변으로 2주보다 더 많은 양의 신생골이 관찰되었으며, 골결손부의 중앙부위에서 골이식재 주변으로 신생골이 관찰되었다(Figure 4C). Bio-Oss[®]를 이식한 후 골외막으로 피개한 군에서 골결손부가 골수강과 소량의 골이식재가 존재하는 부위를 제외하고는 대부분 기존 피질골과 구분할 수 없을 정도로 성숙된 층판골에 의하여 수복된 소견을 보였다(Figure 4D). 반면에 Bio-Oss[®]를 이식한 후 골외막으로 피개하지 않는 군에서 골결손부 변연은 2주보다 더 많은 양의 신생골 증식이 관찰되었으며, 결손부에서는 골이식재의 둘레에 골모세포가 모여들고 신생골이 형성되었으나, 아직 골결손부의 대부분은 골이식재에 의하여 채워져 있었다(Figure 4B).

IV. 총괄

임플란트를 이용하여 상실된 치아를 회복시킬 경우 심미적인 면, 그리고 발음과 저작과 같은 기능적인 면을 완전하게 회복시킬 수 있는 보철물을 제작하기 위해서는 상실된 골조직을 재생시켜 정확한 위치에 임플란트를 식립하는 것이 필수적이다.

골유착 원리에 기초를 둔 임플란트 기술은 임플란트 표면처리 방법의 개선, 새로운 이식재들의 개발, 국소적인 골결손부의 골재건을 위한 수술방법의 개발 등에 의해 주목할만한 발달을 보여왔는데, 이와 같이 골유도재생술을 통해서 재생된 골에 대해서 Proussaefs 등¹⁶⁾은 제2형의 골질에서부터 제4형의 골질까지 다양하다고 보고하였으며, Buser 등¹⁷⁾은 자가골과 비흡수성의 차단막을 사용하여 재생된 골에 식립된 임플란트가 5년간 98.3%의 성공율을 보

고하면서 자연골에 식립된 임플란트의 성공률에 견줄만하다고 보고한 바 있다.

현재 임플란트 주위에 존재하는 골결손부를 재건하기 위해서 보통 골유도재생술을 이용¹⁸⁻²⁰⁾하는데 임플란트 지지골을 만들기 위하여 식립과 동시에 또는 단계적으로 유도재생술을 시행하며 흡수성이나 비흡수성의 차단막을 사용한 경우가 대부분이다.²¹⁾ 최근 김²²⁾은 Bio-Oss[®]와 범랑기질 단백질 유도체를 혼합하여 토끼 두개골 결손부에 사용하였을 때 초기 치유단계에서 골 형성을 촉진한다고 보고하였으며, 임 등²³⁾은 가토의 두개골 결손부에서 Bio-Oss[®]만 이식한 군보다는 Bio-Oss[®]에 혈소판풍부혈장을 혼합 이식한 군에서 골형성이 더 진행됨을 보고하였다. 그러나, 혈관이 풍부하게 분포되어 있으며 골형성 능력이 있는 골막의 역할에 대해서는 그 연구가 미미한 바 이 연구에서는 현재 임상에서 많이 사용되고 있는 Bio-Oss[®]를 이용하여 골막이 재생미치는 역할을 평가하였다.

일반적으로 이식재의 골재생 효과를 평가하기 위해서는 임계골결손부 크기를 이용하는데 토끼 두개골의 임계골결손부 크기는 15 mm이다²⁴⁾. 이 연구에서는 8 mm의 골결손부를 형성하여 임계골결손부 크기에 비해 작았으나 초기 골치유 양상을 관찰하였기 때문에 크기가 끼치는 영향은 미미하리라 생각된다.

1주의 조직학적 소견의 특징을 살펴보면, 이식재가 골막이나 차단막에 의해 섬유조직과 접촉되지 않은 경우 골결손부 가장자리 부위에서는 기존골로부터 소량의 신생골 증식이 관찰되었으며, 골결손부의 가장자리와 골이식재 주변에 골모세포 전구세포로 보이는 세포들이 관찰되었으며, 골막이 존재하지 않은 경우에는 골이식재 사이에 울혈을 포함한 염증성 결합조직이 증식된 소견이 관찰되었으며 절단된 변연부위나 골결손부에서 신생골의 형성이나 골모세포 전구세포나 전골모세포 등이 관찰되지 않았다.

2주의 조직학적 소견의 특징을 살펴보면, 이식재를 사용하지 않고 차단막만 사용한 경우에도 골결손부의 가장자리에서 신생골 형성이 관찰되었으며 이식재가 골막이나 차단막에 의해 섬유조직과 접촉되

지 않은 경우 1주에 비해 신생골이 더 많이 관찰되었으며 골막 허방에서도 신생골이 형성되어 있는 것을 관찰할 수 있었다. 골막이 존재하지 않은 경우에는 골결손부의 변연은 기존 골로부터 소량의 신생골 증식을 관찰할 수 있었으나 이식재 주위에서는 신생골 형성이 관찰되지 않았으며 골이식재 둘레로 골모세포전구세포, 전골모세포들이 관찰되었으며 치밀한 결합조직이 증식된 소견이 관찰되었다.

4주의 조직학적 소견의 특징을 살펴보면, 전반적으로 골결손부 가장자리에서의 신생골 형성은 2주에 비해 더 많이 관찰되었는데, 골막이 존재한 경우 기존 피질골과 구분할 수 없을 정도로 성숙된 층판골에 의해 수복된 소견을 보였으며 골막이 존재하지 않은 경우에도 신생골이 2주 보다 더 많이 관찰되었으나 골결손부의 대부분은 이식재에 의해 채워져 있었다.

이식재를 사용한 후 골재생에 있어서 골막의 역할에 대해서 문헌들을 살펴보면, Wiese 등¹⁴⁾은 HA 과립의 골융합에 있어서 골막의 역할에 대해 조직학적으로 평가하였는데, 골막의 상태에 따라 조직반응이 다르게 나타났다고 보고하였다. 골막이 완전하게 존재한 경우에는(1) 골면에 인접한 HA 과립층은 주변골에 의해 유도되는 층판골로 덮히거나, (2) 골막과 과립, 그리고 골면 사이에 존재한 골은 골막에 의해 유도되는 골처럼 보이는 막성골로 보이며, 그리고(3) 골막에 인접한 과립은 골막에 의해 유도되는 골 내에 함입되어 있는 것처럼 보인다고 하였으며, 골막이 찢어졌을 경우에는 결합조직이 과립들 사이의 공간내로 침투되었다고 보고하였다. 즉 골막이 찢어지지 않고 정상적으로 존재할 경우에는 이식재 내로 섬유조직의 함입이 차단되어 골과 HA 과립 사이에 적절한 결합이 일어날 수 있다고 보고하였다. 또한, 김 등²⁵⁾은 백서의 두개골에 치아회분말과 치과용 연석고를 혼합하여 매식한 후 골막으로 피개한 실험군과 피개하지 않은 대조군을 비교한 결과 대조군에 비해 실험군에서 매식체와 골주와의 융합이 더 빨랐고, 매식체의 흡수 양상이 훨씬 더 현저하였으며, 그리고 결합조직의 성숙도도 증가됨을 보고하였다.

이 연구에서도 김 등²⁵⁾과 Wiese 등¹⁴⁾의 연구와 유사하게 골형성에 있어서 골막의 역할을 관찰할 수 있었다. 골막이 없는 경우에도 시간이 경과됨에 따라 치밀한 결합조직의 증식과 더불어 신생골이 형성되는 것을 관찰할 수 있었는데 골막이 없는 2주군은 골막이 있는 1주군, 골막이 없는 4주군은 골막이 있는 2주군과 유사한 소견을 나타냈다.

골막의 골형성 능력에 대해서는 실험적 연구와 임상적 연구에서 밝혀졌는데 골막의 외형이 증대된 부위의 부피와 형태를 결정한다고 보고되었다. 섬유아세포가 이식재의 과립사이에 존재한다면 골의 함입이 저해되므로 이식재가 과립 내로 섬유아세포가 이주하는 것을 방지하지 위하여 골막이 완전한 상태로 유지되는 것이 중요하다²⁶⁻²⁸⁾. 임상에서 조직유도재생술이나 골유도재생술을 시행할 때 이식재나 차단막의 노출을 예방하기 위하여 긴장감이 없는 봉합이 매우 중요하다²⁹⁾. 노출을 예방하기 위한 방법의 하나로 골막절개를 흔히 시행하는데 이 연구와 연관되어 생각해 볼 때 이식재를 사용하고 골막절개를 시행한 경우에는 섬유조직의 함입을 차단하여 초기에 신생골이 형성되도록 하는 술식을 고려해야 할 것이다.

이 연구는 골재생술에 있어서 토끼의 두개골을 이용하여 골막의 역할에 대해 초기 치유양상을 조직학적으로 평가한 것으로 향후에는 골막이 찢어졌을 때 골막의 재생시기 등 골막을 이용한 조직형태계측학적인 연구가 필요하리라 생각된다.

V. 결론

이 연구는 골막이 골재생에 끼치는 역할을 평가하기 위하여 12마리의 토끼의 두개골에 6 mm trephine(외경 8 mm, 3i, USA) bur를 이용하여 두개골에 좌우 2개씩 골결손부를 형성한 후 그 효과를 조직학적으로 평가하였다.

대조군은 골결손부에 골이식재를 넣지 않고 비흡수성의 차단막(TefGen Plus, Lifecore Biomedial, Inc, U.S.A.)을 사용한 군, 실험 1군은 골결손부에 Bio-Oss[®]와 비흡수성의 차단막(TefGen Plus, Life-

core Biomedial, Inc, U.S.A.)을 사용한 군, 실험 2군은 골결손부에 Bio-Oss[®]를 넣고 골막을 제거하지 않은 군 그리고 실험 3군은 골결손부에 Bio-Oss[®]를 넣고 골막을 제거한 군으로 선정하였다.

골막에 의한 Bio-Oss[®]의 초기 골생성 효과를 조직학적으로 평가하기 위하여 수술 1주 후, 2주 후, 그리고 4주 후에 희생시켰다. 그리고 골편을 통법에 따라 탈수, 파라핀 포매, 그리고 6 μ m 두께로 박절한 다음 Hematoxylin-eosin 염색을 시행한 후 광학 현미경으로 골재생 효과를 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 골결손부에서 골막은 골재생에 중요한 역할을 하였다.
2. 골막이 존재하며 Bio-Oss[®]가 골결손부내에 위치해 있을 때, 술 후 2주부터 이식재 주위에 신생골이 관찰되었다.
3. 골막이 외과적인 수술과정에서 제거되었을 때 이식재 사이에 결합조직의 침윤이 관찰되었으며, 골막이 존재한 군과 비교했을 때 신생골 형성이 지연되었다.

이 연구는 골재생술에 있어서 토끼의 두개골을 이용하여 골막의 역할에 대해 초기 치유양상을 조직학적으로 평가한 것으로 향후에는 골막이 찢어졌을 때 골막의 재생시기 등 골막을 이용한 조직형태계측학적인 연구가 필요하리라 생각된다.

VI. 참고문헌

1. Parma-Benfenati S, Tinti C, Albrektsson T, Johansson C. Histologic evaluation of guided vertical ridge augmentation around implants in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999;19:425-437.
2. Sawae Y, Kawana F, Sahara T. Effects of enamel matrix derivative on minera-

- lized tissue formation during bone wound healing in rat parietal bone defects. *Electron Microsc.* 2002;51:413-423.
3. Simion M, Trisi P, Piattelli A. Vertical ridge augmentation using a membrane technique associated with osseointegrated implants. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1994;14:497-511.
 4. Gross JS. Bone grafting materials for dental applications: A practical guide. *Compendium.* 1997;18(10):1013-1036.
 5. Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss[®]. 1997;8:117-124.
 6. Khalid A. Bone graft substitutes: A comparative qualitative histologic review of current osteoconductive grafting materials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16:105-114.
 7. Cohen J, Lacroix P. Bone and cartilage formation by periosteum. *J. Bone Joint Surg.* 1955;37(4):717-730.
 8. Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical periodontology and implant dentistry.* 4th ed. Blackwell, Munksgaard. 2003: 3-49.
 9. Melcher AH, Accursi GE. Osteogenic capacity of periosteal and osteoperiosteal flaps elevated from the parietal bone of the rat. *Archs oral Biol.* 1971; 16:573-580.
 10. Stojiljkovic Z, Capak D, Mircetic R. The role of the periosteum in the healing of the dog's Muller plate treated femur fracture. *Vet Med(Praha).* 1994;39(8): 435-442.
 11. 김영균, 여환호. 치아회분과 석고를 혼합하여 제작한 block의 inlay 매식 후 치유과정에 관한 실험적 연구. *대한악안면성형재건외과학회지.* 1996;18(2):253.
 12. Calhoun NR, Neiderw ME, Greene GW. Effects of plaster of paris implants in surgical defects of mandibular alveolar processes of dogs. *J Oral Surg.* 1967: 25:122.
 13. Coetzee AS. Regeneration of bone in the presence of calcium sulfate. *Arch Otolaryngol.* 1980;106:405.
 14. Wiese KG, Merten HA. The role of the periosteum in osteointegration of hydroxyapatite granules. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1993;22:306-308.
 15. Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennstrom J. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. *J Clin Periodont* 1989;13:604-614.
 16. Proussaefs P, Lozada J, Kleinman A. The use of titanium-mesh in conjunction with autogenous bone graft and inorganic bovine bone mineral(Bio-Oss) for localized alveolar ridge augmentation: A human study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003;23:185-195.
 17. Busher D, Ingimarsson S, Dula K. et al. Long term stability of osseointegrated implants in augmented Bone: A 5-year prospective study in partially edentulous patients. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2002;22:108-117.
 18. Corneline R, Scarano A, Piattelli M. Effects of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) on bone defects in rabbit tibias. *J Oral implantol.* 2004;30:69-73.
 19. Donos N, Kostopoulos L, Karring T.

- Alveolar ridge augmentation by combining autogenous mandibular bone grafts and non-resorbable membranes. An experimental study in the rats. *Clin Oral Imp Res*, 2002;13:185-191.
20. Kawana F, Sawae Y, Sahara T. Porcine enamel matrix derivative enhances trabecular bone regeneration during wound healing of injured rat femur. *Anat Rec*. 2001;264:438-446.
21. Simion M, Scarano A, Gionso L. Guided bone regeneration using resorbable and nonresorbable membranes: A comparative histologic study in humans. *Int. J. Oral Maxillofac Implants*. 1996;11:735-742.
22. 김유석, 장현선, 박주철 등. 법랑기질 단백질 유도체와 혼합된 이종골 이식재가 토끼 두개골 결손부의 초기 치유에 미치는 영향. *대한치주과학회지*. 2005;35(1):199-216.
23. 임동웅, 장현선, 박주철 등. 혈소판 농축 혈장과 혼합된 이종골 이식재(Bio-Oss[®])가 토끼 두개골 결손부 초기 치유에 미치는 영향. *대한치주과학회지*. 2005;35(1):217-234.
24. Donos N, Lang P, Karoussis K. et al. The effect of GBR in combination with deproteinized bovine bone mineral and/or enamel matrix proteins on the healing of critical-size defects. *Clinical oral Implants Res*. 2004;15:101-111.
25. 김수관, 여환호 조재오, 백서에서 치아회분말과 치과용 연석고의 혼합배식술시 골막의 역할 : 실험적 연구. *대한악안면성형재건외과학회지*. 1997;19(3):319-331.
26. Norman D, Reis D, Zinman C, Misselevich I, Boss JH. Vascular deprivation-induced necrosis of the femoral head of the rat. An experimental model of avascular osteonecrosis in the skeletally immature individual or Legg-Perthes disease. *Int J Exp Pathol*. 1998;79(3):173-81
27. Risila VS, Alhopuro S, Rintala A. A bone formation with free periosteum. An experimental study. *Scand J Plast Reconst Surg*. 1972;6:51-56.
28. Risila V, Alhopuro S, Rintala A. Bone formation with free periosteal grafts in reconstruction of congenital maxillary clefts. *Ann Chir Gynaecol*. 1976;65:342-351.
29. Nevins ML, Camel M, Nevins MC. et al. Human histologic evaluation of bioactive ceramic in the treatment of periodontal Osseous Defects. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000;20:459-467.

Role of the periosteum on bone regeneration in rabbit calvarial defects

Hyun-Seon Jang^{1,3}, Sang-Mok Kim¹, Joo-Cheol Park^{2,3}, Byung-Ock Kim^{1,3,*}

¹Dept. of Periodontology,

²Dept. of Oral Histology, College of Dentistry

³Oral Biology Research Institute, Chosun University

The role of the periosteum on osteointegration of Bio-Oss[®] (Geistlich, Wolhusen/Switzerland) was studied in rabbit calvarial defect. 12 New Zealand white male rabbits between 2.8 and 4 kg were included in this randomized, blinded, prospective study. Each rabbit was anesthetized with Ketamine HCl (5 mg/kg) and Xylazine HCl (1.5 ml/kg). An incision was made to the bony cranium and the periosteum was reflected. Using a 6-mm trephine bur (3i, USA), four 8-mm defects were created with copious irrigation. The defects were classified into barrier membrane (Tefgen[®], Lifecore Biomedical, Inc, U.S.A.) only group as a control, Bio-Oss[®] with barrier membrane group, Bio-Oss[®] with periosteum covering group, and Bio-Oss[®] without periosteum covering group. There were 2 rabbits in each group. The wound was closed with resorbable suture materials. Rabbits were sacrificed using phentobarbital (100 mg/kg) intravenously at 1, 2, and 4 weeks after surgery. The samples were fixed in 4% paraformaldehyde, and decalcified in hydrochloric acid decalcifying solution (Fisher Scientific, Tustin, CA) at 4°C for 2-4 weeks. It was embedded in paraffin and cut into 6 µm thickness. The sections were stained with H & E and observed by optical microscope.

The results were as follows: 1. The periosteum played an important role in osteointegration of Bio-Oss[®] in bone defects. 2. When the periosteum remained intact and Bio-Oss[®] was placed on the defect, Bio-Oss[®] with periosteum covering has been incorporated into the newly formed bone from 2-week postoperatively. 3. When the periosteum was removed at the surgical procedure, invasion of connective tissue took place among the granules, and new bone formation was delayed compared to periosteum covering group.

Therefore, when the bone grafting was performed with periosteal incision procedure to achieve tension-free suture, the integrity of the overlying periosteum should be maintained to avoid fibrous tissue ingrowth.