

## 탄산아파타이트로 된 인공골과 소뼈에서 유래한 무기질 골의 초기 골전도에 대한 연구

김도균<sup>1</sup> · 조태형<sup>2</sup> · 송윤미<sup>2</sup> · 판 휘<sup>1</sup> · 이수연<sup>1</sup> · 진임건<sup>1</sup> · 김인숙<sup>2</sup> · 홍국선<sup>3</sup> · 황순정<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, <sup>2</sup>서울대학교 치학연구소, BK 21 치의학생명과학사업단

<sup>3</sup>서울대학교 공과대학 재료공학부

### Abstract

#### A STUDY ABOUT EARLY OSTEOCONDUCTIVITY OF POROUS ALLOPLASTIC CARBONAPATITE AND ANORGANIC BOVINE XENOGRAFT IN CANINE MAXILLIARY AUGMENTATION MODEL

Do Kyun Kim<sup>1</sup>, Tae Hyung Cho<sup>2</sup>, Yun Mi Song<sup>2</sup>, Hui Pan<sup>1</sup>, Su Yeon Lee<sup>1</sup>, Im Geon Jin<sup>1</sup>,  
In Sook Kim<sup>2</sup>, Kug-Sun Hong<sup>3</sup>, Soon Jung Hwang<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Seoul National University,

<sup>2</sup>Dental Research Institute, Brain Korea 21 for Dental Life Science, Seoul National University

<sup>3</sup>School of Materials Science & Engineering, Seoul National University

**Introduction** : Although several types of calcium-phosphate compound have been frequently applied to osseous defects at maxillofacial area for many years, there is a controversy about its efficiency on bone conductivity compared to xenograft bone substitute. Alloplastic carbonapatite has been introduced to improve disadvantages of hydroxyapatite and to mimic natural bone containing carbon elements. However, a preclinical study about its efficiency of osteoconductivity has not been reported. This study was performed to evaluate the early osteoconductive potential of synthetic carbonapatite with multiple pores relative to anorganic bovine xenograft.

**Materials and methods** : Total 5 beagle dogs were used for maxillary augmentation model. The control (anorganic bovine xenograft) and experimental groups (synthetic carbonapatite) were randomly distributed in the mouth split design. After bone graft, all animals were sacrificed 4 weeks after surgery. Histological specimens with Masson Trichrome staining were made and histomorphometrically analysed with image analyser. The statistical analysis was performed using paired t-test.

**Results** : In both groups, all animals had no complications. The experimental group showed relatively much new bone formation around and along the bone substitutes, whereas it was clearly reduced in the control group. The ratios of new bone area to total area, to material area and to the residual area excluding materials were higher in the experimental group ( $0.13 \pm 0.03$ ,  $0.40 \pm 0.13$ ,  $0.20 \pm 0.06$  respectively) than in the control group ( $0.01 \pm 0.01$ ,  $0.03 \pm 0.02$ ,  $0.03 \pm 0.03$ , respectively). And the differences between both groups were statistically significant ( $p < 0.001$ ,  $< 0.01$ ,  $< 0.01$ , respectively), while the ratio of material area to total area in two groups was not significant.

**Conclusion** : Carbonapatite showed a high osteoconductivity in the early stage of bone healing compared to bovine derived anorganic bone substitute. This study suggests that this bone materials can be applied as a reliable bone substitute in the clinical treatment.

**Key words**: Carbonapatite, Multiple pores, Osteoconduction, Anorganic bovine xenograft, Early stage, Bone regeneration

## I. 서 론

외상이나, 종양 또는 선천적 골 결손을 동반한 질환과 노화로 인한 자연적 골위축에 골결손부에 많이 사용하는 골이식재는 자가 골 이식 (autogenous bone graft)으로 골내에 있는 골모세포와 줄기세포가 골형성을 할 수 있는 능력으로 가장 우수한 골이식재이지만, 외과적 과정을 통해 자신의 신체 내에서 채취하여야 하므로 충분한 양의 이식 골을 구하기가 어렵고 공여 부위에 합병증이 발생하는 문제점이 있다<sup>1)</sup>. 반면 사체에서 얻어진 동종골 (allogenic bone graft)이나 동물의 뼈를 이용한 이종골 (xenogenic bone graft)는 감염 질환의 감염 위험, 동종과 이종으로 인한 면역반응 및 사용량의 제한 및 처리과정에 따라 골형성능의 정도가 매우 차이가 많은 문제점이 있다<sup>2)</sup>. 특히 소 또는 송아지뼈로 만들어진 골이식재가 상품으로 개발된 이후, 쉽게 구입할 수 있고 동종골에 비해 상대적으로 저렴한 비용으로 최근까지 사람에서 가장 많이 사용되고 있지만, 인간 광우병이 광우병에 걸린 소의 골분으로 전염되는 사실이 알려진 후 각국에서 소의 골분으로 제조된 식품, 의약품이 모두 금지된 형편이다. 이러한 단점을 극복하기 위해, 자가 골을 대체할 만한 성능을 가진 인공 골 (artificial bone) 개발 연구가 1980년대 들어 많이 이루어져 왔으며, 뼈의 주성분이며 생체친화성이 우수한 인산 칼슘계 화합물중에서 하이드록시아파타이트 (hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ : HA)를 이용한 다양한 인공골이 개발되어 임상에 사용되고 있고<sup>3,4)</sup>, 하이드록시아파타이트의 수산기 (OH-) 대신 탄산기 (CO<sub>3</sub>-)로 치환한 탄산아파타이트도 골이식재로 상품화되어 사용되고 있다.

임상에서 많이 사용하고 있는 소뼈에서 유래한 무기질 뼈는 칼슘이 제거되고 결정의 크기가 약 10 $\mu\text{g}$ 인 카아보네이트된 아파타이트이고 이 무기질 뼈는 지금까지 많은 동물실험과 임상실험에서 다양한 적용으로 좋은 결과를 보였다고 보고 되고 있다<sup>5,6)</sup>. 하이드록시아파타이트는 인공골로써 흡수가 느리고 조직내 용해도가 낮은 단점이 있고, 자연골의 칼슘포스페이트는 무게당 2.3-8%의 탄산 성분을 함유하고 있어<sup>7,8)</sup> 자연골의 성분을 모방하기 위해, 하이드록시아파타이트 구조에서 수산기 또는 인산기를 탄산이온과 치환하여 인공 탄산아파타이트를 형성하여 골이식재로 사용한다<sup>9,10)</sup>.

하지만, 아직까지 인공 탄산아파타이트와 자연골의 골전도 능력을 비교한 연구가 보고되지 않았다. 본 연구에서는 탄산성분이 들어있는 자연골을 모방하여, 인공적으로 탄산성분을 함유시킨 인공골의 초기 골전도 능력을 자연골과 비교하기 위하여, 인공 탄산아파타이트와 현재 가장 많이 사용되고 탄산성분을 함유한 자연골인 소뼈에서 유래한 무기질 뼈를 개의 상악골에 이식하여 골형성의 정도를 조직학적으로 비교 평가하고자 한다.

## II. 대상 및 연구방법

## 1. 골이식재

합성된 탄산아파타이트 골이식재는 Bongros® (Bioalpha Inc., Sungnam, Korea)를 사용하였고, 입자의 크기는 0.6-1.0mm 크기를 사용하였다. 제조과정을 간단하게 설명하면, 합성 하이드록시아파타이트 분말을 폴리머 스폰지에 코팅한 후 건조, 성형하였고 1200℃ 이상으로 온도에서 소성하였다. 이렇게 제조된 골이식재는 다공성 구조를 가지고 있으며 화학적으로는 하이드록시기를 탄산기가 치환한 탄산아파타이트 재질이다. 대조군에 사용한 소뼈에서 유래한 무기질뼈로 망사골 형태의 Bio-Oss® (Osteohealth, USA)를 이용하였고, 입자의 크기가 0.25-1.0mm인 이식재를 사용하였다.

## 2. 동물실험

건강하고 성장이 완료된 생후 1년되고 체중 15-17kg되는 총 5마리의 비글견을 대상으로 실험을 진행하였다. 골전도를 통한 골형성은 골이식재에 대한 자연골의 노출 면적과 골이식재의 양에 따라 그 정도가 다르고, 개의 상악동은 비강과 같은 수직적 높이에서 거의 모두 비강과 개통이 되어 있는 해부학적인 구조로 인해, 다수의 실험동물을 대상으로 한 상악동 거상술에서 동일한 골이식재의 양과 자연골의 노출을 조절하기 어려워 상대적인 골전도를 평가하기 어렵다. 이런 문제점을 극복하기 위해, 본 연구에서는 상악 좌우측 구치부 상방에 위치한 안와하신경관 (infraorbital nerve canal)에 골이식을 시행하였는데, 통상의 상악동 측방 접근법과 같이 상악구치부의 치근단 상방의 협측 골벽에 창문을 형성하고 안와하신경을 내측상방으로 밀어 올려 골이식 공간을 형성하였다. 이렇게 형성된 공간은 대상 실험동물에서 거의 균일하고, 노출된 자연골의 면적도 비교적 균일하게 유지할 수 있는 장점이 있었다. 실험군에는 다공성의 탄산아파타이트로 된 인공골를, 대조군에는 소뼈에서 유래한 무기질 골를 이식하였고, 실험군과 대조군의 좌우측 배정은 무작위로 하였다. 실험에 사용된 모든 동물은 서울대학교 치과대학의 실험동물의 안전과 윤리에 대한 위원회에서 정한 규칙에 따라 반입과 사육 및 실험과 안락사 과정을 처리하였다. 실험 동물은 난방과 냉방장치로 22℃로 일정하게 유지 되는 사육실에서 사육되었고 수술 후 1주일간 부드러운 음식을 섭취하였으며, 그 이외의 기간에는 음식의 섭취에 제한을 두지 않았다.

마취는 기도를 통한 도관 삽입을 통한 전신마취하를 하였으며, 도입마취제로 아트로핀 주사액 0.05mg/kg

(Atropine sulfate, 0.5mg/ml, Jeil Pharm. Co., Daegu, Korea), 케타민주사액 10ml/kg (Ketamine hydrochloride<sup>®</sup> 50mg/ml, Yuhan Co. LTD, Seoul, Korea)과 xylazine hydrochloride 주사액 2mg/kg (Rompem<sup>®</sup> 23.32mg/ml, Bayer in Korea, Seoul, Korea)를 사용한 후, 주마취로 Enflurane(U.S.P) 2% (Gerolan soln.<sup>®</sup> 100ml/100ml, Choongwae Pharm Co., Seoul, Korea)를 사용하였다. 구강 및 상하악 부위를 10% Betadine (Potadine<sup>®</sup>, Sam-II Pharm., Seoul, Korea)으로 수술부위를 소독한 후, 통증과 출혈을 줄이기 위해서 1:100,000 epinephrine를 함유한 2% lidocaine(Lidocaine HCL Inj<sup>®</sup>, Yuhan Corp., Seoul, Korea)를 상악 좌우측 구치부 전정에 주사하였다. 상악제1대구치 근심에서 시작하여 제3대구치 후방까지 이르는 협측절개를 구강전정에 주고, 점막 골막판을 상방으로 밀어 올려 협측의 골벽을 노출시켰다. 상악동 거상술의 측방접근법의 방법대로 round bur를 이용하여 사각형의 window를 형성하고 안와하신경을 내상방으로 들어 올려 골이식재를 넣을 공간을 형성하고 실험군과 대조군의 골이식재를 이식하였다. 그 후, 점막골막판을 다시 원위치시키고 5.0 흡수성 봉합사(vicryl<sup>®</sup>)로 봉합하였다. 수술 후 통증완화와 감염예방을 위하여 acetaminophen tablet 15ml/kg (acetaminophen(K.P.)<sup>®</sup> 300mg/tab, (Daewoo Pharma. Co., Busan, Korea)과 cefazolin 주사액 20mg/kg (cefazolin sodium<sup>®</sup> 1g/vial, CKD, Seoul, Korea)을 투여하였다. 수술 후 동물을 4주 (n=5)에 formalin으로 perfusion시키면서 안락사 시키고, 상악 구치부 악골을 채취하였다.

### 3. 조직학적 검사 및 평가

골이식을 한 곳을 중심으로 총 30mm길이의 골편을 상악 골에서 채취하고, 비탈석회화 광학 현미경 검사를 위해 희생 직후 고정된 검체는 탈수 과정후 methyl methacrylate로 포매하였다. 비탈회 조직절편의 제작방법은 Donath와 Breuer<sup>11)</sup>가 기술한 대로, 다이아몬드 톱을 사용, 4mm 두께로 표본의 관상면(coronal plane)으로 절단하여 박절 표본에서 안와하신경관 부위의 골이식 부위와 그 아래의 치조골이 보일 수 있도록 하였고 조직절편은 전후방적으로 골이식 부위의 중간부위가 되게 하고, Exact Cutting and Grinding 장비(Exact Apparatebau GmbH & Co., Norderstedt, Germany)로 갈아서 50  $\mu$ m로 제작하였다. 염색은 Masson-Trichrome (MT)을 시행하였다.

상악동 골이식 부위에서의 골형성 정도를 평가하기 위해, 조직사진을 카메라가 달린 광학 현미경(Axioskop Microscope, Olympus BX51, Olympus Co, Tokyo, Japan)에 올려 영상을 찍고 이 영상을 영상분석 프로그램

(SPOT version 4.1, Diagnostic instrument Inc., MI, USA)와 Image J<sup>12)</sup>을 이용하여 골이식된 전체 면적, 골이식재 면적과 연조직의 면적 및 신생골 형성의 면적을 조직계측학적으로 측정하였다. 평가에 포함된 관찰야(observation field)는 인공골과 소무기질뼈가 이식된 전체면적을 대상으로 하여, 평가 위치를 선택함으로써 생길 수 있는 평가자의 편견을 배제하였다.

신생골 형성의 정도는 (가) 전체 면적에 대한 신생골 형성의 면적의 비율, (나) 골이식재에 대한 신생골 형성의 면적 비율과 (다) 전체 면적에서 골이식재를 제외한 면적에 대한 비율로 측정하였으며, 골이식재의 양에 따라 신생골을 형성할 수 있는 빈공간의 정도와 골전도의 정도가 다를 수 있으므로, (1) 전체 면적에 대한 골이식재 면적의 비율과 (2) 전체 면적에서 골이식재가 차지하는 비율에 대해 신생골 면적이 차지하는 비율(%)로 계산하였다.

### 4. 통계 분석

각 그룹의 결과는 평균값±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성은 paired t-test에 의해 SPSS 프로그램을 이용하여 검증하였고, 통계적으로 유의함은  $p < 0.05$  경우로 간주하였다.

## III. 결 과

### 1. 육안 및 촉진검사

총 5 마리의 비글견에서 수술 후 사육 도중 사망한 경우는 없었고, 상악 협측 전정에 절개를 준 부위에서의 연조직의 염증이나 다른 합병증을 보인 동물이 없어 5마리 모두를 대상으로 평가하였다. 골이식을 한 부위에서 인공골에서나 소뼈에서 유래한 무기골에서 모두 검지손가락을 압력을 가하는 촉진 시 약 1mm 깊이의 반동을 느낄 수 있었으나 조직이 변형되는 현상은 관찰되지 않았다.

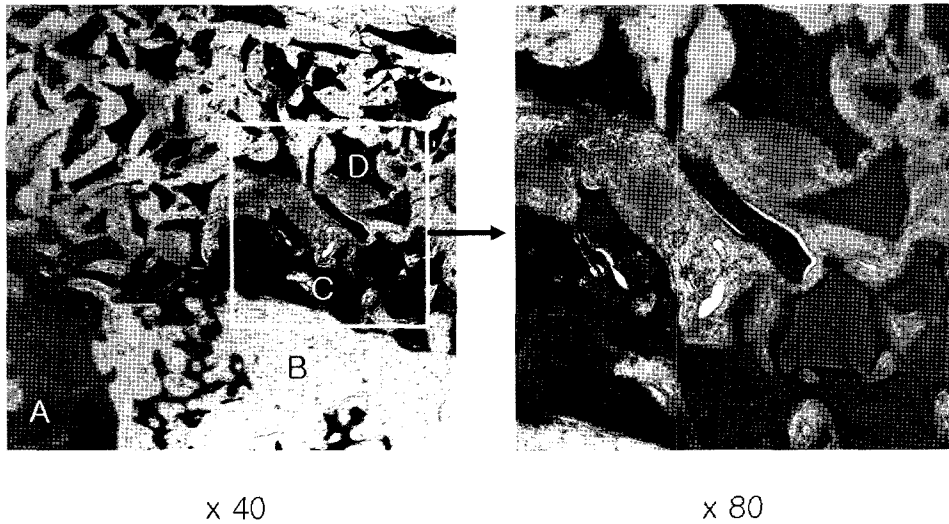
### 2. 조직학적 소견

인접골로부터 골이식재를 매개로 골형성이 퍼지는 골전도 현상은 소뼈에서 유래한 무기골에서는 관찰할 수 없었고 (Fig. 1), 인공골에서는 인접골에서 시작되는 신생골 형성이 근처에 위치한 골이식재를 다리로 하여 상방 또는 측방으로 퍼져 나가는 것이 현저하게 관찰되었고, 이러한 골전도 현상은 상방으로 갈수록 감소하였다(Fig. 2). 반면 소뼈에서 유래한 무기골에서는 일부 동물에서 기저부의 골이식재 일부가 안와하신경관 기저부의 자가골대에 매식되어 있는 모습이 관찰되기도 하였지만, 그 직상방에 위치한 골이

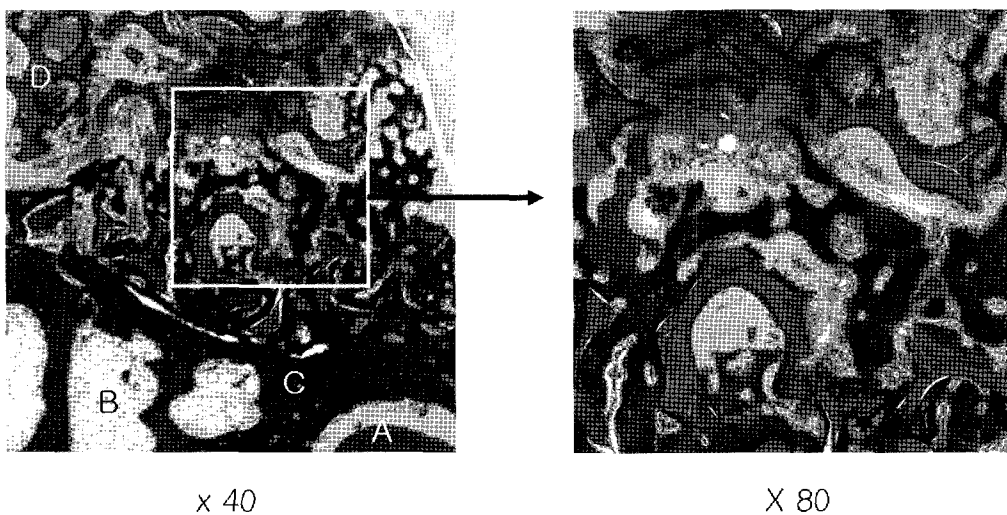
식재료의 골전도는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

인공골의 2차원적으로 절단된 골이식재 내에서 원형의 기공이 관찰되었으며, 절단된 면이 만곡도가 심한 곡선을 나타내어 기공이 많았음을 알 수 있었지만(Fig. 1), 소뼈에서 유래한 무기골에서는 골이식재내에 기공의 형태를 관찰할 수 없었고 절단 면의 만곡도도 크기 않았다(Fig. 1). 또, 인공골에서 골이식재에 접한 신생골 위로 조골세포가 사각형

모양으로 일렬로 배열된 모습을 보여 활성화된 조골세포를 관찰할 수 있었고(Fig. 3), 안와하신경관 상방에서는 골전도 되어지는 방향에 따라 골이식재의 하방면 또는 측방면의 일부를 포함하였다. 하지만, 소뼈에서 유래한 무기골에서는 골이식재 주위로 골형성은 전혀 없었고, 결체조직으로 보이는 연조직이 골이식재 근접해서는 밀도가 높게, 골이식재에서 떨어진 곳에서는 밀도가 낮게 관찰되었다(Fig. 3).



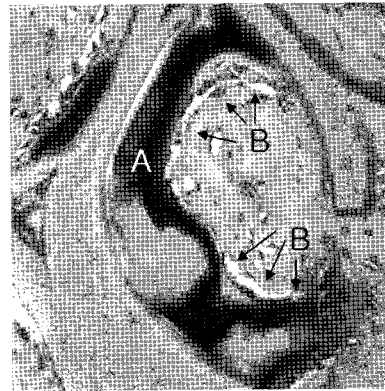
**Fig. 1.** histological sections of augmented maxillary bone area with anorganic bovine bone after 4 weeks (MT staining,  $\times 40$  and 80).  
A: maxillary alveolar bone, B: bone marrow, C: bony floor, D: bone substitute



**Fig. 2.** histological sections of augmented maxillary bone area with synthetic carbonapatite after 4 weeks (MT staining,  $\times 40$  and 80).  
A: root of maxillary tooth, B: bone marrow, C: bony floor, D: bone substitute



anorganic bovine bone



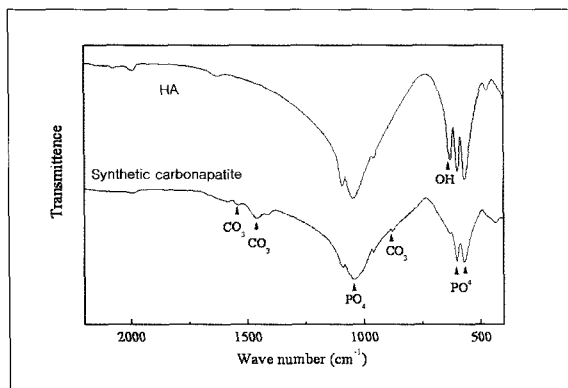
alloplastic carbonapatite

**Fig. 3.** no bone forming cells around bovine derived anorganic bone and active osteoblast with new bone formation around synthetic carbonapatite after 4 weeks (MT staining,  $\times 200$ ). A: new bone, B: osteoblasts

**Table 1.** Histomorphometric Values in the Control (anorganic bovine xenograft) and Experimental group (synthetic carbonapatite) which were Implanted in the Maxilla of Beagle Dog for 4 weeks

ratio	Synthetic carbonapatite	Anorganic bovine xenograft	p*
(A) Area of new bone/ total area	$0.13 \pm 0.03$	$0.01 \pm 0.01$	$<0.001$
(B) Area of new bone /area of bone substitute	$0.40 \pm 0.13$	$0.03 \pm 0.02$	$<0.01$
(C) Area of new bone / total area area of bone substitute	$0.20 \pm 0.06$	$0.03 \pm 0.03$	$<0.01$
(D) Area of bone substitute /total area	$0.34 \pm 0.07$	$0.43 \pm 0.09$	NS
(E) C/D	$0.60 \pm 0.16$	$0.06 \pm 0.05$	$<0.001$

\*paired t-test



**Fig. 4.** FT-IR patterns of the synthetic carbonapatite used in this study and of hydroxyapatite (Apaceram, Pentax, Tokyo, Japan) being available in the market.

### 3. 조직계측학적 평가

신생골의 형성은 (가) 전체면적에 대해서나 (나) 재료면적에 대해서 그리고 (다) 재료를 제외한 나머지 면적에 대한 비율에서 모두 소뼈에서 유래한 무기골( $0.01 \pm 0.01$ ,  $0.03 \pm 0.02$ ,  $0.03 \pm 0.03$ ) 보다 인공골( $0.13 \pm 0.03$ ,  $0.40 \pm 0.13$ ,  $0.20 \pm 0.06$ )에서 현저하게 많은 골형성을 보였고 이들의 차이는 통계적으로 모두 유의하였다( $p < 0.001$ ,  $< 0.01$ ,  $< 0.01$ )(Table 1). 골이식재의 관점에서, (1) 전체면적에 대한 골이식재의 면적의 비는 인공골( $0.34 \pm 0.07$ )보다 소뼈에서 유래한 무기골( $0.43 \pm 0.09$ )에서 약간 높았으나 통계적으로 유의하지 않았던 반면, (2) 이에 대한 재료를 제외한 면적 기준의 신생골 면적비((다)/(1))는 소뼈에서 유래한 무기골( $0.06 \pm 0.05$ )에서 보다 인공골( $0.60 \pm 0.16$ )에서 현저하게 높았으며, 이는 통계적으로 유의하여( $p < 0.001$ )(Table 1), 골이식재의 단위 면적당에서도 인공골이 소뼈에서 유래한 무기골보다 월등하게 많은 골형성을 보였다.

#### IV. 고 찰

자연골의 칼슘포스페이트는 무게당 2.3-8 %의 탄산 성분을 함유하고 있는 반면<sup>7,8)</sup> 하이드록시아파타이트에는 탄산 성분이 낮아, 느린 흡수와 낮은 용해도의 단점이 있어 이를 개선하기 위해 하이드록시아파타이트 구조에서 수산기 또는 인산기를 탄산이온과 치환하여 인공 탄산아파타이트를 형성하여 골이식재로 사용한다<sup>9,10)</sup>. 본 실험에 사용한 인공 골에 함유된 탄산성분을 국내 수입되어 시판중인 하이드록시아파타이트 골이식재(Apaceram, Japan)를 비교하기 위해 FT-IR (Perkin Elmer Spectrum 2000, USA) 분석 하였다(Fig. 4). 하이드록시아파타이트 골이식재에는 하이드록시기(OH) 흡수 밴드( $630\text{cm}^{-1}$ )가 강해 전형적인 하이드록시아파타이트의 IR 패턴을 보이나 본 연구에 사용된 인공 골은 하이드록시아파타이트의 하이드록시기를 탄산기가 치환할 때 나타나는 탄산기( $\text{CO}_3^{2-}$ ) 흡수 밴드( $1540, 1465, 870\text{cm}^{-1}$ )가 관찰되어 본 실험에 사용한 인공골은 기존의 하이드록시아파타이트에 비해 성분에서 탄산 성분이 많이 포함된 재료임을 알 수 있었다.

하이드록시아파타이트 세라믹은 생체친화성이 좋고 골전도성이 우수하나 골형성을 유도하는 골유도성은 없다<sup>13)</sup>. 따라서 다공성 수산화아파타이트는 자가골 이식과는 달리 골형성능은 없고 골 결손부에 인접한 뼈에서 신생골이 형성되어 골결손부쪽으로 자라들어 갈 때 다리 역할과 구조적 지지체 역할을 한다. 다양하게 나온 HA로 구성된 골대체재의 골전도성은 서로 다르게 보고 되고 있는데<sup>13-19)</sup>, 그 주된 이유 중의 하나는 다공성 하이드록시아파타이트의 기공 구조 형태, 기공과 기공을 연결하는 정도와 그리고 연결 기공(interconnected pore size)의 크기이다<sup>4,20-23)</sup>. 기공 구조는 재생골이 3차원적으로 성장할 수 있도록 기공들이 3차원적으로 연결되는 것이 좋고, 기공과 기공 사이가 서로 막히지 않고 완전히 연결된 열린 기공 구조가 유리하다고 알려져 있다<sup>4,20-23)</sup>. 연결 기공은 그 크기가  $100\mu\text{m}$  이상 일 때, 혈관이 자라들어 갈 수 있어 골세포에 원활한 영양을 공급할 수 있기 때문에 재생골이 성장해 들어갈 수 있다<sup>4,21,23)</sup>. 그러나 연결 기공이 너무 커도 골성장에는 방해될 수 있기 때문에 최적의 크기는 약  $300\mu\text{m}$ 인 것으로 보고 되고 있다<sup>24)</sup>.

다공성 HA 골이식재를 제조하는 방법에는 천연 산호초를 이용하는 방법과 인위적으로 다공체를 성형한 다음 소결 공정을 통해 제조하는 방법이 있다. 천연 산호초 중 일부 산호는 균일한 기공 크기를 가지고 있어 기공이 3차원적으로 연결되어 있기 때문에 골 성장에 유리한 기공 구조를 가지고 있다<sup>24-26)</sup>. 이러한 산호초를 골충진재로 이용하기 위해서 아파타이트로 수열변성하거나, 단지 그 기공구조를 그대로 이용하여 새로운 물질로 바꾸는 방법을 사용하고 있다<sup>24-26)</sup>. 그

러나 골이식재로 적합한 구조의 천연 산호초는 전세계적으로 남태평양의 일부 지역에서만 구할 수 있기 때문에 원료 확보가 쉽지 않으며 환경과파괴적인 문제도 제기되고 있는 형편이며, 기본적으로 재질 자체가 탄산칼슘이기 때문에 수열변성하여 얻을 수 있는 물질이 하이드록시아파타이트 외에는 다양하게 바꿀 수 없는 문제점이 있을 뿐 아니라, 기공 구조나 크기도 산호초 그대로 쓸 수 밖에 없기 때문에 제조자가 필요에 따라 바꿀 수 없는 단점이 있다.

다공질 하이드록시아파타이트 이식체 제조에 쓰이는 또 하나의 흔한 방법은 나프탈렌 입자와 같이 가승화성 물질이나 구형 고분자체 등을 하이드록시아파타이트 분말과 혼합하고 압력을 가해 성형한 다음 열처리하는 것이다. 나프탈렌 입자가 휘발되거나 구형 고분자체가 타면서 그 입자들이 있던 자리는 구형 기공(pore)이 형성되고 서로 접촉했던 부분에는 좁은 neck이 형성되면서 연결 기공(interconnected pore)이 형성된다. 이러한 제조방법은 비교적 간단하고 나프탈렌이나 고분자를 섞는 양이 기공율(porosity)을 결정하기 때문에 기공을 조절이 용이하다. 그러나 기공 속으로 신생골이 자라 들어가기 위해서는 기공끼리 서로 연결되어야 하고, 연결기공의 크기가 최소  $100\mu\text{m}$  이상이어야 하는 데<sup>4,21,23)</sup>, 이러한 제조방법으로는 기공끼리의 불연속성을 유발하기 쉽고 연결기공의 크기도  $100\mu\text{m}$  이상이 되기 어렵고 재생골의 성장을 방해하는 단점이 있다. 본 연구에서 사용된 탄산아파타이트는 분쇄형태에서 기공이 비교적 잘 보존되어 있으며 열린 기공의 크기가  $300\mu\text{m}$  전후로 이루어진 세라믹 이식체로, 본 연구의 조직절편의 사진에서 이러한 기공의 구조가 대조군으로 사용한 소뼈에서 유래한 무기골보다 상대적으로 더 많이 관찰할 수 있었고, 신생골 형성의 정도가 대조군에 비해 많았던 점도 이러한 기공의 구조에 영향을 받았을 것으로 추측된다.

소뼈에서 유래한 무기질 뼈는 지금까지 많은 동물실험과 임상실험에서 다양한 적용으로 좋은 결과를 보였다고 보고 되고 있지만 한편으로는 신생골의 생성정도에서 5-42%의 많은 차이를 보이고 있다<sup>8,15,16,28-32)</sup>. Huezeler 등은 원숭이의 상악동 거상술에 소무기질뼈를 단독으로 이식하고 6-8개월 후에 관찰한 동물실험에서 신생골형성이 20.2-32.5%(평균 27.4%)라고 보고 하였고<sup>27)</sup>, Jensen 등이 최근 보고한 미니피그의 하악골 우각에서 실험한 결과에서는 소무기질 뼈에서의 신생골 형성이 2주에서 약 4%, 4주에서 약 26%, 8주에서 42% 이루어지고, 자가골이나 TCP보다 대체로 적은 골형성을 보였지만, 대체로 만족할 만한 결과를 보였다<sup>28)</sup>. 환자에서 채취한 뼈를 조직학적으로 분석한 연구도 계속 보고 되고 있는데, 동물실험의 결과와 마찬가지로 신생골형성의 정도는 연구마다 서로 다른 결과를 보이고 같은 연구에서도 개인마다 결과의 차이가 많으나, 이식된 뼈에 식립된

임플란트가 임상적으로 안정적인 것으로 알려져 있다<sup>2, 6,15,18,29-36</sup>. 소무기질뼈를 단독으로 상악동에 이식한 환자들에서의 임상연구에서 신생골 형성의 정도는 6개월 단독 증례에서 28%<sup>29</sup>, 4-36개월과 6-8개월에서 혼합한 대상에서 16.38%<sup>31</sup>, 12.4430%였으며 10명의 환자에서 이식 후 6개월과 12개월에서의 조직검사에서 18.3%와 26.6%의 신생골이 형성된 것으로 보아<sup>33</sup> 이식 후 장기간동안 지속적으로 골형성이 형성되는 양상이라고 평가되고 있다. 치아주위의 골결손에 적용한 4명의 경우에는 5.2%-31.6%<sup>15</sup>의 결과가 보고 되었다. 본 연구에서는 골이식재의 초기 4주간의 골전도만을 대상으로 평가를 하여, 문헌에 보고된 6개월 이상의 관찰기간을 둔 상악동 거상술에서의 골전도에 의한 골형성과 비교하기 어려운 점이 있지만, 짧은 관찰기간을 감안하더라도 상대적으로 낮은 골형성 수치를 보였다. 이는 관찰 평가방법의 차이나 임플란트 식립에 따른 외과적 자극을 통한 골전도능의 차이에 기인할 수도 있으나, 상악동과 안와하신경관의 해부학적 차이점에 원인이 있을 수 있으므로, 향후 이에 대한 비교연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 본 연구의 한계점인 초기 4주만의 관찰기간이 아니라 좀 더 긴 관찰기간과, 더 많은 동물개체수를 대상으로 한 추가연구를 통해 장기적이고 전체적인 골전도 과정과 골형성에 대한 평가가 필요하겠다.

이 무기질 뼈만으로는 골유도(osteinduction)이 불가능하므로, 이식된 부위의 양질의 뼈 재생을 위하여 골유도를 할 수 있는 자가골 또는 탈회골의 이식이 필요하다는 주장에 따라<sup>17,35</sup>, 이 무기질 뼈는 자가골<sup>2,14,19</sup> 또는 탈회동결건조골(demineralized freeze-dried bone: DFDB)<sup>18</sup>과 함께 사용하거나 자가골과 동종골 두 가지를 모두 섞어서 임상적으로 안정된 결과를 보였다고 문헌에 보고되고 있다. 성장요소를 첨가하여 골형성의 촉진을 조사했던 연구에서 골이식 후 2차적으로 임플란트를 식립한 16개의 골생검에서 평가한 결과에서는 신생골이 34%가 형성되었고, 식립된 임플란트의 2년 성공률이 99%에 달하였고<sup>2</sup>, 골형성의 양과 속도를 향상시키기 위해 혈소판성장인자나 중간엽줄기세포를 이용한 연구도 보고되고 있다<sup>37,38</sup>. 이상의 문헌에서 보는 바와 같이 소무기질뼈는 임플란트 식립을 위한 상악동 거상술에 성공적으로 사용할 수 있는 좋은 골이식재이나, 골전도를 통한 신생골 형성이 느린 단점이 있다. 본 연구에서 소뼈에서 유래한 무기질을 사용한 대조군의 일부 동물에서 골이식재 일부가 인접 자가골내에 매식되어 있는 모습이 관찰되기도 하였지만, 이는 리모델링 과정에 의해 매식되었거나 또는 안와하신경 거상술의 과정에서 골막이 제거된 후, 기저부의 골이 자극을 받아 형성된 뼈에 매식된 것으로 판단된다. 자가골에 둘러싸인 골이식재와 기저부 뼈 위에 위치한 골이식재 사이에 골형성이 없는 것으로 보아, 인접골으

로부터의 골전도는 매우 미약하고, 골전도를 위해서는 본 실험의 관찰기간인 4주 보다 더 많은 기간이 필요할 것으로 추측된다. 반면 탄산아파타이트인 인공골은 소뼈에서 유래한 무기질보다 왕성한 신생골형성이 관찰되었다.

인산칼슘 화합물로 된 인공골이 체 내에서 분해되는 성질은 인산칼슘화합물의 종류에 따라서 다르다. 가토의 척추 이식 모델을 이용하여 최적의 생분해성과 골수복능을 가진 인산칼슘화합물 조성을 확인하는 실험을 수행한 논문에서 골결합성은 탄산 하이드록시아파타이트와 일인산칼슘으로 이루어진 다공체가 우수하였고 삼인산칼슘(Tricalcium phosphate,  $Ca_3(PO_4)_2$ )이나 삼인산칼슘이 들어간 조성의 다공체는 기공구조가 빠르게 붕괴되었고 3개월 경과 후에는 많은 부분이 흡수되었고 신생골 형성도 적었다고 보고되었다<sup>27</sup>. 인산 칼슘계 이식체는 생체내에서 흡수되면서 칼슘과 인을 유리하게 되는데 이것이 혈액내에 흡수되어 혈청내 농도를 상승시킬 수 있으며 나아가서 고칼슘혈증, 고인산혈증으로 인한 합병증을 유발할 수 있을 이론적 가능성이 있으나, 문헌에 의하면 인산 칼슘계 다공체 이식군에서 음성, 양성 대조군, 기타 인공골 이식군과 비교하여 특이할 만한 혈청 농도의 변화를 유발하지 않아 생체내 칼슘, 인의 유리로 인한 합병증은 문제가 되지 않을 것으로 보고되었다<sup>27</sup>. 본 실험의 조직질편에서도 골재생이 왕성한 4주에서 실험군의 탄산아파타이트와 대조군의 소뼈에서 유래한 무기질 뼈의 흡수가 관찰되지 않았다.

## V. 결 론

본 연구는 다공성 탄산아파타이트로 된 인공골의 초기 골전도 능력을 기존에 가장 많이 사용되고 있는 소뼈에서 유래한 무기질 뼈와 비교하기 위해 총 5마리의 비골절에서 상악 좌우측 구치부 상방에 위치한 안와하신경관의 안와하신경을 거상하고 생긴 공간에 실험군에는 탄산아파타이트로 된 인공골을, 대조군에는 소뼈에서 유래한 무기질 뼈를 이식하고 4주에 안락사시켜 masson trichrome 염색을 통한 조직표본을 만들고 조직계측학적으로 신생골형성의 정도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 인접골로부터 골이식재를 매개로 골형성이 되는 골전도 현상은 인공골에서 기저부에서 상방으로 갈수록 감소하였고, 소뼈에서 유래한 무기질 골에서는 일부 동물에서 골이식재 한층 정도가 기저부의 자가골내에 매식되어 있는 모습이 관찰되기도 하였지만, 그 직상방에 위치한 골이식재로의 골전도는 관찰되지 않았다.
2. 인공골의 2차원적으로 절단된 골이식재 내에서 원형의 기공이 관찰되었으며, 절단된 면이 만곡도가 심한 곡선을 나타내어 기공이 많았음을 알 수 있었지만, 소뼈에

서 유래한 무기질 골에서는 골이식재 내에 기공의 형태를 관찰할 수 없었고 절단 면의 만곡도도 크지 않았다.

3. 신생골의 형성은 (가) 전체면적에 대해서나 (나) 재료 면적에 대해서 그리고 (다) 재료를 제외한 나머지 면적에 대한 비율에서 모두 소뼈에서 유래한 무기골(0.01±0.01, 0.03±0.02, 0.03±0.03) 보다 인공골(0.13±0.03, 0.40±0.13, 0.20±0.06)에서 현저하게 많은 골형성을 보였고 이들의 차이는 통계적으로 모두 유의하였다( $p < 0.001$ ,  $< 0.01$ ,  $< 0.01$ ).
4. 골이식재의 관점에서, (1) 전체면적에 대한 골이식재의 면적의 비는 인공골(0.34±0.07)보다 소뼈에서 유래한 무기골(0.43±0.09)에서 약간 높았으나 통계적으로 유의하지 않았던 반면, (2) 이에 대한 재료를 제외한 면적 기준의 신생골 면적비 ((다)/(1))는 소뼈에서 유래한 무기골(0.06±0.05)에서 보다 인공골(0.60±0.16)에서 현저하게 높았으며, 이는 통계적으로 유의하여( $p < 0.001$ ), 골이식재의 단위 면적당 인공골에서 더 많은 신생골의 형성됨을 알 수 있었다.

#### 참고문헌

1. Smiler DG : Advances in endosseous implants: the 'sandwich' split cortical graft for dental implant placement. Dent Implantol Update 11 : 49, 2000.
2. Galindo-Moreno P, Avila G, Fernandez-Barbero JE et al : Evaluation of sinus floor elevation using a composite bone graft mixture. Clin Oral Implants Res 18 : 376, 2007.
3. Froum S, Cho SC, Elian N et al : Extraction sockets and implantation of hydroxyapatites with membrane barriers : a histologic study. Implant Dent 13 : 153, 2004.
4. Hing KA, Best SM, Tanner KE et al : Mediation of bone ingrowth in porous hydroxyapatite bone graft substitutes. J Biomed Mater Res A 68 : 187, 2004.
5. Hurzeler MB, Quinones CR, Kirsch A et al : Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part I. Evaluation of anorganic bovine-derived bone matrix. Clin Oral Implants Res 8 : 476, 1997.
6. Sartori S, Silvestri M, Forni F et al : Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. Clin Oral Implants Res 14 : 369, 2003.
7. Bigi A, Cojazzi G, Panzavolta S et al : Chemical and structural characterization of the mineral phase from cortical and trabecular bone. J Inorg Biochem 68 : 45, 1997.
8. Stevenson S : Biology of bone grafts. Orthop Clin North Am 30 : 543, 1999.
9. Gibson IR, Bonfield W : Novel synthesis and characterization of an AB-type carbonate-substituted hydroxyapatite. J Biomed Mater Res 59 : 697, 2002.
10. Nelson DG, Featherstone JD : Preparation, analysis, and characterization of carbonated apatites. Calcif Tissue Int 34 Suppl 2 : S69, 1982.
11. Donath K, Breune G : A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. J Oral Pathol 11 : 318, 1982.
12. Abramoff MD, Magelhaes PJ, Ram S J : Image Processing with Image. J Biophotonics International 11 : 36, 2004.
13. Hoexter DL : Bone regeneration graft materials. J Oral Implantol 28 : 290, 2002.
14. Boyne PJ : Analysis of performance of root-form endosseous implants placed in the maxillary sinus. J Long Term Eff Med Implants 3 : 143, 1993.
15. Camelo M, Nevins ML, Schenk RK et al : Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss and Bio-Gide. Int J Periodontics Restorative Dent 18 : 321, 1998.
16. Jensen SS, Aaboe M, Pinholt E M et al : Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. Int J Oral Maxillofac Implants 11 : 55, 1996.
17. Misch CE, Dietsch F : Bone-grafting materials in implant dentistry. Implant Dent 2 : 158, 1993.
18. Schwartz Z, Goldstein M, Raviv E et al : Clinical evaluation of demineralized bone allograft in a hyaluronic acid carrier for sinus lift augmentation in humans : a computed tomography and histomorphometric study. Clin Oral Implants Res 18 : 204, 2007.
19. Yildirim M, Spiekermann H, Handt S et al : Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histologic and histomorphometric clinical study in humans. Int J Oral Maxillofac Implants 16 : 23, 2001.
20. Holmes RE, Bucholz RW, Mooney V : Porous hydroxyapatite as a bone-graft substitute in metaphyseal defects. A histometric study. J Bone Joint Surg Am 68 : 904, 1986.
21. Woodard JR, Hilldore AJ, Lan SK et al : The mechanical properties and osteoconductivity of hydroxyapatite bone scaffolds with multi-scale porosity. Biomaterials 28 : 45, 2007.
22. Hsu YH, Turner IG, Miles AW : Mechanical characterization of dense calcium phosphate bioceramics with interconnected porosity. J Mater Sci Mater Med Epub, 2007.
23. Peyrin F, Mastrogiacomo M, Cancedda R et al : SEM and 3D synchrotron radiation micro-tomography in the study of bioceramic scaffolds for tissue-engineering applications. Biotechnol Bioeng 97 : 638, 2007.
24. Tencer AF, Woodard PL, Swenson J et al : Mechanical and bone ingrowth properties of a polymer-coated, porous, synthetic, coralline hydroxyapatite bone-graft material. Ann N Y Acad Sci 523 : 157, 1988.
25. Martin RB, Chapman MW, Holmes RE et al : Effects of bone ingrowth on the strength and non-invasive assessment of a coralline hydroxyapatite material. Biomaterials 10 : 481, 1989.
26. Ripamonti U : Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models. Biomaterials 17 : 31, 1996.
27. Lee CK, Chang BS, Hong KS : Differences of osteoconductivity in multi-porous hydroxyapatite with different pore shapes. J of Korean Orthop Assoc 34 : 643, 1999.
28. Jensen SS, Brogini N, Weibrich G et al : Bone regeneration in standardized bone defects with autografts or bone substitutes in combination with platelet concentrate: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of



- minipigs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 20 : 703, 2005.
29. Valentini P, Abensur D, Densari D et al : Histological evaluation of Bio-Oss in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. *Clin Oral Implants Res* 9 : 59, 1998.
  30. Froum SJ, Wallace SS, Elian N et al : Comparison of mineralized cancellous bone allograft (Puros) and anorganic bovine bone matrix (Bio-Oss) for sinus augmentation : histomorphometry at 26 to 32 weeks after grafting. *Int J Periodontics Restorative Dent* 26 : 543, 2006.
  31. Wheeler SL, Holmes RE, Calhoun CJ : Six-year clinical and histologic study of sinus-lift grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11 : 26, 1996.
  32. Han KD, Chung IH, Lee E K et al : Maxillary sinus augmentation with bovine bone mineral (bio-oss.) and the maxillary tuberosity. *J Kor Oral Maxillofac Surg* 033 : 391, 2007.
  33. Lee YM, Shin SY, Kim JY et al : Bone reaction to bovine hydroxyapatite for maxillary sinus floor augmentation: histologic results in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent* 26 : 471, 2006.
  34. Marchetti C, Pieri F, Trasarti S et al : Impact of implant surface and grafting protocol on clinical outcomes of endosseous implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 22 : 399, 2007.
  35. Tadjoedin ES, de Lange GL, Bronckers AL et al : Deproteinized cancellous bovine bone (Bio-Oss) as bone substitute for sinus floor elevation. A retrospective, histomorphometrical study of five cases. *J Clin Periodontol* 30 : 261, 2003.
  36. Moy PK, Lundgren S, Holmes RE : Maxillary sinus augmentation : histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg* 51 : 857, 1993.
  37. Lee J, Sung D H, Choi J Y et al : The effects of Bio-Oss. as a scaffolds during sinus bone graft using mesenchymal stem cells in rabbit. *J Kor Oral Maxillofac Surg* 033 : 405, 2007.
  38. OSY, Kim SK, Jo SI et al : Xenobone Grafting With Platelet-Rich Plasma Gel And Bio-Oss : Radiological In Humans. *J Kor Maxillofac Plas Reconstr Surg* 24 : 489, 2002.

**저자 연락처**

우편번호 110-749  
 서울특별시 종로구 연건동 28  
 서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실  
**황순정**

원고 접수일 2007년 10월 4일  
 게재 확정일 2007년 10월 31일

**Reprint Requests**

**Soon-Jung Hwang**  
 Dept. of OMFS, School of Dentistry, Seoul National University  
 28 Yeongun-dong, Jongro-gu, Seoul, 110-749, Korea  
 Tel: +82-2-2072-3061 Fax: +82-2-766-4948  
 E-mail: sjhwang@snu.ac.kr

Paper received 4 October 2007  
 Paper accepted 31 October 2007