

Hydroxyapatite를 이식한 임플란트 주위 골결손부에서 rhPDGF-BB와 rhBMP-2가 골내 임플란트 osseointegration에 미치는 영향: Micro-CT 분석과 조직학적 평가

박지현 · 황순정 · 김명진

서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract

EFFECT OF RHPDGF-BB AND RHBMP-2 ON OSSEOINTEGRATION OF TITANIUM IMPLANTS AT PERIIMPLANT BONE DEFECTS GRAFTED WITH HYDROXYAPATITE: MICRO-CT AND HISTOLOGIC ANALYSIS

Jee-Hyun Park, Sun-Jung Hwang, Myung-Jin Kim

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Seoul National University

Purpose: Platelet derived growth factor(PDGF)-BB and bone morphogenetic protein(BMP)-2 are well-known representative growth factors. The purposes of this study were to investigate the effect of rhPDGF-BB and rhBMP-2 on osseointegration of titanium implants at periimplant bone defects grafted with hydroxyapatite and to evaluate the feasibility of imaging bone structures around screw-type titanium implant with micro-CT.

Materials and Methods: The first molar and all premolars in the mandible region of four beagle dogs were extracted. Following a healing period of 4 months, three 8×8×6mm-sized bony defects were formed and screw-type titanium implants were placed with hydroxyapatite(HA) block and growth factors: Control group, PDGF group and BMP group. Two months post-implantation, the mandible was harvested. Bone volume(BV), bone-to-implant contact(BIC) and bone mineral density(BMD) were analyzed with micro-CT and histology.

Results: According to micro-CT analysis, BV and BMD measures of PDGF and BMP group were significantly higher than control group(BV: PDGF group: $p=0.011$, BMP group: $p=0.006$ /BMD: PDGF group: $p=0.020$, BMP group: $p=0.011$) and BIC measures of BMP group were significantly higher than PDGF group($p=0.015$). In histologic evaluation, BIC measures of BMP group was significantly higher than PDGF group($p=0.048$). The values of BV in histologic sections were higher than in micro-CT images and the values of BIC in micro-CT images were higher than in histologic sections.

Conclusion: The findings of this experimental study indicates that the use of rhPDGF-BB and rhBMP-2 can increase new bone formation in a large bony defect around titanium implant, and rhBMP-2 is more effective than rhPDGF-BB. Micro-CT can be considered useful for assessment as a rapid and nondestructive method for 3-dimensional measurement of bone healing around implants. Further study is necessary, however, to remove metal artifacts around titanium implant and to standardize the method.

Key words: Implant, HA, rhPDGF-BB, rhBMP-2, Micro-CT, Histology

I. 서론

치아를 상실한 부분에 임플란트를 식립하는 방법은 골유

착성 임플란트의 여러 치료 가능성과 높은 성공 예측성으로 인해, 현재 결손 치아를 대체할 수 있는 방법으로 널리 이용되고 있다. 임플란트의 성공 여부는 임플란트 표면과 주위

골의 직접적인 접촉 즉, osseointegration이 이루어졌는지 여부에 달려있다. 또한 충분한 양의 뼈가 존재하지 않을 때에는 다양한 방법의 뼈이식이 필요하며, 이 때에도 임플란트와 이식된 뼈 및 신생골과의 직접적인 접촉이 임플란트의 성공에 중요하다. 따라서 결손된 치조골을 회복하는 방법이 임플란트의 성공에 매우 중요한 요소이며, 임상적으로 중요하다고 할 수 있다.

전통적인 골결손 수복을 위한 방법으로는 자가골이식 (autografting)과 동종골이식 (allografting) 등이 있다. 자가골이식은 지금까지 골형성의 gold standard로써 골형성 측면에서 가장 효과적인 방법으로 알려져 왔다¹⁾. 하지만 자가골 채취를 위한 부가적인 수술에 수반되는 동통, 혈종, 감염등과 같은 합병증, 대량공급의 어려움, 이식골편의 흡수 등의 단점이 있다²⁻⁴⁾. 또한 동종골이식은 공여자로부터 질병의 전염, 감염, 그리고 자가골 이식에 비해 골유합 및 골형성 효과가 낮은 단점을 가지고 있다^{5,6)}.

조직공학적 골형성 (bone tissue engineering)은 이러한 단점을 해결하고 자가골을 대체하여 골결손을 치료할 수 있는 방법으로써⁷⁾, 임플란트 분야에서도 이에 대한 연구가 진행되고 있다^{8,9)}. 조직공학에 의한 골재생을 위해서는 골생성을 유도하는 골아전구세포, 이런 세포들이 적당한 위치에서 증식분화할 수 있는 지지체 (scaffold), 그리고 골아전구세포의 유도분화를 촉진할 수 있는 성장인자들이 필요하다¹⁰⁾. 이번 연구에서는 지지체로써 합성골인 hydroxyapatite (HA)를 이용하였고, 숙주의 골아전구세포의 유도분화를 촉진할 수 있는 성장인자로써 혈소판유래성장인자 (recombinant human platelet-derived growth factor: rhPDGF-BB)와 골형성단백 (recombinant human bone morphogenic proteins: rhBMP-2)을 이용하였다.

HA는 합성 세라믹의 하나로 골전도 성질을 가지고 있으며, 생체친화적이고, 천천히 흡수되고 숙주골로 대체되어, 지금까지 골이식에 많이 사용되어 왔다¹¹⁻¹³⁾. 골유도 성장인자로써 지금까지 주목을 받아왔던 것 중에 하나는 PDGF-BB이다. PDGF-BB는 혈소판과 골조직의 alpha granules에 포함되어 있으며, 그 작용은 골전구세포 (osteoprogenitor cells)와 골아세포 (osteoblasts)들을 포함하는 세포에 작용하여 이주, 증식, 기질합성, 신생혈관형성 개시 등에 관여한다고 알려져 있다¹⁴⁾. 또 다른 골유도 성장인자로써 BMP가 골형성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. BMP는 1965년에 Urist에 의해 처음 발견되고, 명명되었으며¹⁵⁻¹⁷⁾, 그 중 강력한 골치유 능력을 보이는 bmp-2가 골절치유 및 골형성을 자극한다는 것이 밝혀졌다^{18,19)}. 또한 BMP-2가 임플란트 주위에서 골형성을 촉진하고, 골-임플란트 접촉을 증가시킨다는 연구 결과가 있었다²⁰⁻²⁴⁾.

지금까지 임플란트 주변골의 평가는 주로 조직절편을 이용하여 이루어졌다. 임플란트가 포함된 조직을 레진 포매한

뒤 "sawing and grinding" 하는 방법으로 얇은 조직절편을 만들었다²⁵⁾. 하지만 이렇게 조직절편을 만드는 방법은 시간이 많이 걸리며, 정밀한 기술이 필요하고, 조직의 한 단면만을 평가할 수 있다는 단점이 있다. 즉, 삼차원적인 임플란트 주변골 평가는 불가능하다. 또한 한번 조직절편을 만들고 나면, 조직이 손상되는 단점이 있다. 그래서 새로운 평가 방법으로 microfocus computerized tomography (micro-CT)를 이용하는 방법이 소개되었다²⁶⁾. Micro-CT를 이용하는 방법은 비파괴적일 뿐만 아니라, 삼차원적 분석을 가능하게 하고, 원하는 평면으로 재구성할 수 있다. 또한 조직절편을 만드는데 걸리는 시간을 절약할 수 있으며, 기존의 medical CT에 비해 약 100배 정도의 해상도를 가질 수 있다. 따라서 micro-CT는 현재 의학분야²⁷⁻²⁹⁾와 치의학 분야³⁰⁻³⁴⁾에서 많이 이용되고 있다.

본 연구에서는 alloplastic material인 HA와 성장인자인 rhPDGF-BB, rhBMP-2를 이용하여 골조직을 재생하고, 동시에 임플란트를 식립한 후, 골형성 정도 및 임플란트의 osseointegration에 미치는 영향을 micro-CT와 조직절편을 이용하여 평가할 것이다. 즉, rhPDGF-BB 및 rhBMP-2의 전달체로써 HA를 사용했을 때 이들이 골형성을 증진시키고 임플란트의 osseointegration을 증가 시킬 것이라는 가설을 검증하고, rhPDGF-BB와 rhBMP-2의 골형성 촉진 능력을 비교평가할 것이다. 또한 micro-CT를 이용한 임플란트 주변골 관찰의 유용성을 평가하고, 그 결과를 조직검사 결과와 비교해 보고자 한다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 동물 실험

체중 13kg 내외의 비글견 네마리를 이용하였으며, 이들은 서울대학교 치과대학 치학연구소내의 실험동물실에서 사육되었다. 변화된 환경에 대한 2주간의 적응기간을 거친 후 실험을 시작하였다. 모든 동물 실험은 tiletamine (10mg/kg)과 xylazine HCL (0.4mg/kg)을 정맥주사하여 전신마취 한 후 이루어졌다. 비글견의 편측 하악 소구치와 제1대구치를 발치하고, 약 4개월의 치유기간을 가졌다. 그 후 무치악의 치조골에 치조정 절개를 하고, 직경 8mm의 trephine bur를 이용하여 3개의 골결손을 형성하였다. 골결손의 크기는 약 8×8×6(가로×세로×높이)mm로 협측벽과 설측벽이 제거된 3벽형 골결손이었다 (Fig. 1.a). 골결손부에는 HA block (Bongros[®]-HA, Bioalpha, Korea)을 이식하였으며, 사용된 HA block은 다공성으로 기공율이 약 70%, 기공의 평균 크기는 약 300μm이었다. HA block에 미리 형성된 약 3.5mm 크기의 구멍에 임플란트 (3.3×10mm, Osstem[®], Korea)를 식립하여, HA block을 골결

손 부위에 고정하였다(Fig. 1.b). HA block은 이식되기 전에 세그립(Control group, PDGF group, BMP group)으로 나누어 준비되었다. 수술부위의 치은점막은 4/0 vicryl로 봉합하였다. 8주 후 동물을 희생하고, 10% 포르말린으로 intracarotid artery infusion을 시행한 후, 임플란트가 포함된 하악골 조직을 채취하였다(Fig. 1.c). 임플란트와 이식골 및 하악골을 포함하는 6개의 조직샘플을 폭 1.5cm 미만으로 절단한 후, 10% 포르말린 용액에 담가두었다.

2. 성장인자/전달체 (Growth factor/carrier composites)의 준비

실험에 사용된 HA block들은 그 모양을 비글견의 치조골 모양에 맞게 다이아몬드 칼로 다듬은 뒤, 그 중앙에 임플란트를 위한 3.5mm 직경의 구멍을 형성하였다. HA block들은 수술에 사용되기 전 감마선을 이용하여 철저히 소독되었다. 그리고 Control, PDGF, BMP group으로 나누어 각각 0.05ml phosphate buffered saline(PBS), 25 μ g rhPDGF-BB(Peprotech INC.,USA)+0.05ml normal saline, 그리고 25 μ g rhBMP-2(Daewoong co.ltd., Korea)+0.05ml PBS을 제조회사의 지시에 따라 적용하였다.

3. Microfocus CT scanner

각 조직은 먼저 Skyscan 1172 microfocus CT system(Skyscan, Belgium)을 이용하여 촬영되었다. CT scanner 내부에 있는 turntable에 조직을 고정한 후 수평과 수직으로 움직여 위치를 조정하였다. 16 μ m의 해상도 및 80kV의 전압, 124 μ A의 전류, 316msec의 노출시간으로 CT 촬영을 하였다. 그밖에 stepping rotational angle은 0.4도, 전체 scanning 시간은 조직당 약 15분이었고, 알루미늄 필터와 구리 필터를 함께 사용하였다. 촬영된 원본 파일은 NRecon[®](ver.1.6, Thomson Scientific Instruments LTD., Australia)을 이용하여 삼차원으로

재구성하여, Skyscan CT system에 포함된 분석프로그램인 CT-Analyzer[®](ver.1.9, Skyscan, Belgium)를 이용하여 분석할 수 있도록 하였다.

4. 조직학적 관찰

위에서 micro-CT 촬영한 동일 조직샘플을 통상적인 조직 처리방법에 의해, 알코올로 탈수시키고 레진포매한 뒤, 절편을 약 50 μ m의 두께로 절삭하였다. 단면의 방향은 임플란트의 중앙을 중심으로 근원심 방향으로 하였고, Masson's Trichrome stain 염색법을 사용하여 광학현미경으로 관찰한 후 사진촬영 하였다.

5. 정량적 분석

Micro-CT상에서 bone volume(BV)과 bone mineral density(BMD)를 구하기 위해 먼저 VOI(the volume of interest)를 설정하였다. VOI는 한 개의 샘플당 8개의 직경 1.5mm 원기둥 모양으로 설정하였다. 그 수직적 위치는 HA block의 가장 저면에서 시작하였으며, 120 slice(높이 약 1.9mm)를 포함하였고, 수평적 위치는 HA block의 중앙으로 하였다(Fig. 2). BV와 BMD의 측정은 CT-Analyzer[®]를 이용하였다. Micro-CT 분석을 위해서는 어떤 density 이상의 값을 골조직으로 볼 것인지에 대한 기준인 역치값의 지정이 필요한데, 여기에서는 사용한 HA block을 같은 조건하에 micro-CT로 scanning하고, 역치를 변화 시켜 기공율이 약 70%가 되는 값으로 역치값을 정하였다. Bone-to-implant contact(BIC)의 측정을 위한 ROI(the region of interest)는 삼차원 이미지를 수직으로 section한 평면상에서 정하였다. 한 개의 샘플당 4개의 평면을 section하였고, 해당 평면에서 ROI는 HA block의 저면에서부터 4개의 임플란트 thread를 포함하는 영역으로 하였고, 임플란트의 양쪽 면에서 각각 ROI를 정하였다(Fig. 3). BIC의 측정은 Image J[®](ver.1.41, National Institutes of Health., USA)를 이용하였다. BIC 측정을



Fig. 1. Design of animal experiment. (a) 8x8x6mm-sized bony defects prepared with a trephine bur. (b) Implants placement with HA bone block in circumferential coronal defects. (c) Post-implantation 8 weeks, mandible containing three implants and grafted bone was harvested.

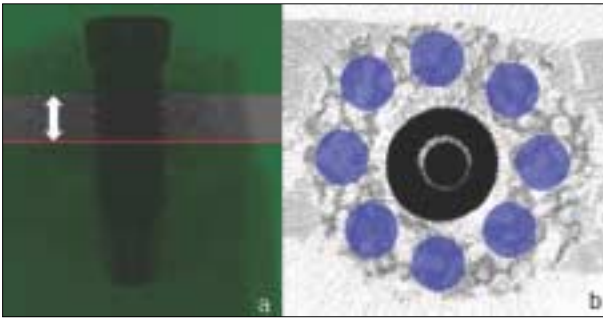


Fig. 2. Micro-CT images: VOI for BV and BMD measurement. a) The vertical position: area in arrow, b) The horizontal position: 8 round area.

위해서는 금속 artifact의 제거를 위해서 이미지의 contrast와 brightness를 조절해야 하는데, 그 값은 다음과 같이 정하였다. 먼저 임의로 하나의 조직절편을 선택하고, 조직절편에서 절단된 HA block의 단면 모양을 기준으로 micro-CT 상에서 해당되는 평면을 CT-Analyzer를 이용하여 slice cutting 하였다. Micro-CT image를 조직절편 사진과 비교해본 후, brightness와 contrast를 조정하여, artifact를 제거하고 HA 및 신생골을 주변조직과 구별할 수 있게 하였다.

조직절편에서 BV의 측정을 위한 ROI는 수직적으로는 HA block의 저면에서부터 시작하고, 수평적으로는 HA block의 중앙에 있는 1.5×1.9mm의 직사각형 영역을 각각 임플란트 양쪽에서 정하였다. 조직절편에서 BIC의 측정을 위한 ROI는 micro-CT 상의 단면에서와 동일한 방법으로 정하였다(Fig. 4.a). 조직절편에서 BV와 BIC 측정은 각각 photoshop CS4® (ver.11.0, Adobe Systems incorporated., USA)와 mage J®를 이용하였다.

대조군과 실험군들간 측정값 차이의 통계학적 유의성 검사를 위해 two-tailed Student's t-test와 one way ANOVA를 이용하였다.

III. 연구 결과

1. Micro-CT image의 육안 소견 및 정량적 분석

Micro-CT에서 HA는 가장 높은 진하기를 보였으며, 주변과 구분이 용이하였다. 하지만 신생골의 경우에는 금속 artifact와 구분이 힘들었다. 임플란트 경계 부분에는 금속 artifact 때문에 실제 임플란트의 크기보다 확대되어 보였고, 표면이 불규칙했다. 특히 임플란트의 apex부분에서는 artifact로 인해 임플란트 주변 골 관찰이 불가능했다(Fig.3.b). 금속 artifact를 제거하고 BIC 및 BV의 측정을

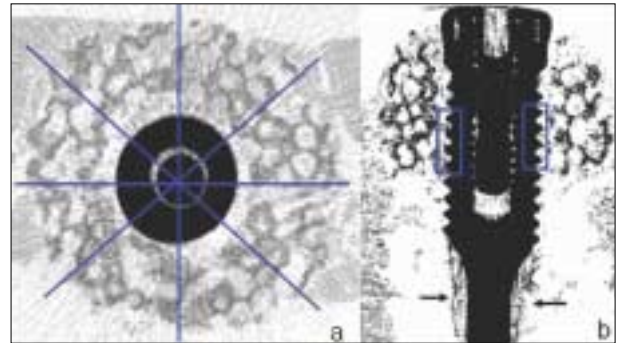


Fig. 3. Micro-CT images: ROI for BIC measurement. a) The location of sectioning, b) In two rectangular areas, BIC was evaluated. The metal artifacts around the apex of implant(black arrow).

가능하게하기 위해 임의로 하나의 micro-CT 이미지를 골라 해당 조직절편과 비교하여 역치값을 조절하였는데, 조절된 후의 이미지에서는 HA의 경우에 진하기가 증가하면서 주변과의 경계가 더욱 명확해졌고, 밀도가 낮은 신생골의 경우에는 금속 artifact와 같이 제거되는 경향을 보였다. 정량적 분석 결과 대조군, PDGF group, BMP group으로 갈수록 BV와 BMD 값이 증가하는 경향을 보였으며, BIC의 경우에는 PDGF group에서 대조군보다 낮은 평균값을 보였다. 통계학적 분석 결과 BV와 BMD의 경우에는 PDGF group과 BMP group에서 모두 대조군과 유의성 있는 차이를 보였고(BV: PDGF group: $p=0.011$, BMP group: $p=0.006$ /BMD: PDGF group: $p=0.020$, BMP group: $p=0.011$), PDGF group과 BMP group 간에는 유의성 있는 차이를 보이지 않았다($p>0.05$). BIC의 경우에는 PDGF group과 BMP group에서만 유의성 있는 차이를 보였다($p=0.015$)(Fig. 5).

2. 광학현미경적 소견 및 정량적 분석

조직절편에서 HA는 갈색으로 염색 되었고, 신생골은 분홍색으로 염색 되었으며, HA block 주변에 신생골이 잘 생긴 것을 관찰할 수 있었다. HA block에 형성된 구멍 때문에 HA block과 임플란트 사이에 gap이 존재하였고, 임플란트와 직접 접촉되는 골조직은 모두 신생골임을 알 수 있었다(Fig. 4). 정량적 분석 결과 micro-CT 결과와 마찬가지로 BV의 경우에는 대조군, PDGF group, BMP group으로 갈수록 그 값이 증가하는 경향을 보였고, BIC의 경우에는 PDGF group에서 대조군보다 낮은 평균값을 보였다. 통계학적 분석 결과 BV의 경우 실험군과 대조군간에 통계학적 유의성 있는 차이는 없었으며($p>0.05$), BIC 값의 경우에서 PDGF group과 BMP group 간에만 유의성 있는 차이를 보였다($p=0.048$)(Fig. 5).

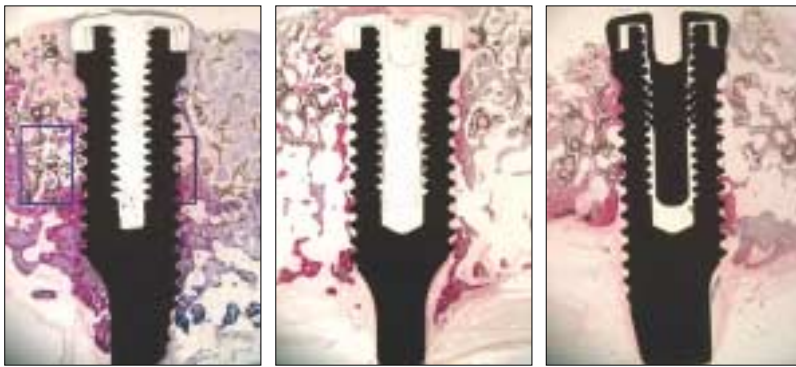


Fig. 4. The histologic images. a) Control group, Left box: ROI for BV measurement, right box: ROI for BIC measurement, b) PDGF group, c) BMP group

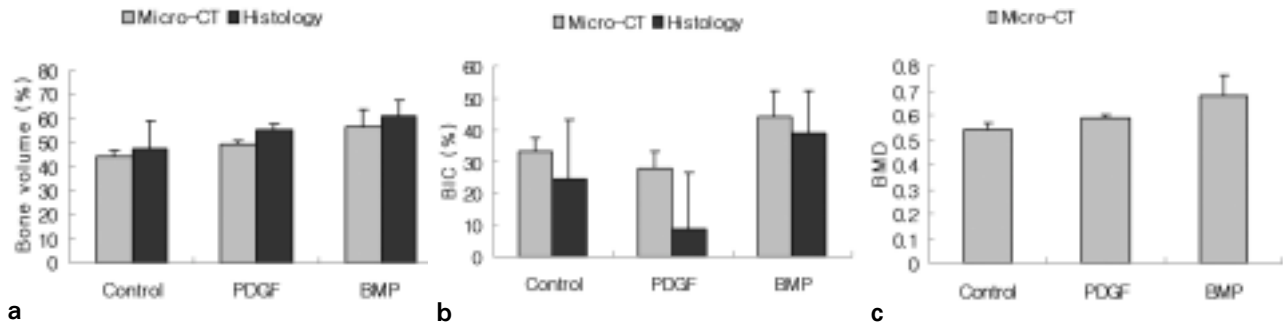


Fig. 5. Graph showing BV(a), BIC(b) and BMD(c) results in micro-CT and histologic images. According to micro-CT analysis, BV and BMD measures of PDGF and BMP group were significantly higher than control group(BV; PDGF group: $p=0.011$, BMP group: $p=0.006$ /BMD; PDGF group: $p=0.020$, BMP group: $p=0.011$) and BIC measures of BMP group were significantly higher than PDGF group($p=0.015$). In histologic evaluation, BIC measures of BMP group was significantly higher than PDGF group($p=0.048$). The values of BV in histologic sections were higher than in micro-CT images and the values of BIC in micro-CT images were higher than in histologic sections.

3. Micro-CT와 조직절편에서의 BIC 및 BV 값의 비교

Micro-CT를 이용한 분석의 경우에는 BV를 구하기 위한 VOI와 BIC를 구하기 위한 ROI가 각각 샘플당 8개씩, 총 32개였다. 하지만 조직절편을 이용한 분석의 경우에는 BV와 BIC를 구하기 위한 ROI가 각각 샘플당 2개씩, 총 8개였다. 정량적 분석 결과 BV의 경우에는 micro-CT 상에서 측정된 값이 조직절편에서 측정된 값보다 낮은 경향을 보였고, BIC 값의 경우에는 반대로 micro-CT 상에서 측정된 값이 조직절편에서 측정된 값보다 높은 경향을 보였다(Fig.5).

IV. 고 찰

본 연구에서는 임플란트 주위의 골 결손부에서 HA block과 rhPDGF-BB, rhBMP-2를 이용하여 골재생을 시행하였고, 그 결과를 micro-CT와 조직검사를 통해서 비교관찰하였다. 현재 PDGF와 BMP가 임플란트 주위의 골결손부에서 골재생을 증가시킨다는 많은 보고가 있으나, 이는 대부분 작은 골 결손부에서 실험한 경우가 많았고³⁵⁻³⁶⁾, 성장인

자의 전달체로써 block bone을 이용한 경우는 거의 없었다³⁷⁻⁴⁰⁾. 또한 현재 시판되고 있는 성장인자인 rhPDGF-BB와 rhBMP-2의 골재생 능력을 임플란트 주위 골결손부에서 비교평가한 보고가 없어 본 연구를 시행하게 되었다.

조직절편을 이용하여 임플란트 주변골을 관찰하는 방법은 지금까지 가장 많이 이용되어 왔다. 하지만, 조직절편으로는 삼차원적 관찰이 불가능하다는 점 때문에 scanning microscopy, serial sectioning^{41,42)} 등의 삼차원적인 관찰 시도가 있어왔다. 하지만 이 역시 높은 비용과 기술력이 요구되는 단점이 있어, 최근에는 micro-CT를 이용하는 방법이 많이 연구되고 있다. Bone histomorphometry의 연구에는 Bone volume(BV), bone mineral density(BMD), bone structure index; trabecular thickness(TbTh), trabecular separation(TbSp), trabecular number(TbN)와 dynamic parameter 등이 이용되며, 이 중 임플란트 주변골 parameter로써는 주로 bone volume(BV)과 bone-to-implant contact(BIC)이 이용되어왔다. 실제로 micro-CT가 임플란트 주변골 연구에 있어서 조직절편을 이용한 방법을 대체할 수 있을지는 아직 확실하지 않다. 또한 micro-CT를 촬영할 때의 setting 값들도 연구마다 모두

다르다. 따라서 이번 연구에서는 micro-CT에서 측정된 BV와 BIC 값을 조직절편에서 구한 값과 비교해 봄으로써 micro-CT의 유용성을 평가하고자 하였다.

rhPDGF-BB와 rhBMP-2의 사용은 micro-CT(PDGF group: 11.5%, BMP group: 27%)와 조직검사(PDGF group: 15.6%, BMP group: 27.6%)를 이용한 방법에서 모두 BV 값의 증가에 현저한 효과를 나타내었다. 또한 rhBMP-2를 사용하였을 때는 BIC 값도 증가하였다 (micro-CT: 33.3%, 조직절편: 57%). PDGF group의 경우에 BIC 값이 micro-CT와 조직절편에서 대조군 보다 오히려 낮게 측정 되었다. 이는 두 마리 비글견의 PDGF group에서 이식된 HA block이 임플란트와의 접근도가 떨어져, 신생골 형성이 임플란트 주변에까지 못미친 결과라고 할 수 있다. HA는 자연형태의 calcium carbonate로부터 carbonate요소를 phosphonate로 대체시켜 평균 내공이 200-500 μ m로 상용화 되어있다. 하지만 이는 압축강도는 높지만 인장력이 낮아 부서지기 쉬우며, 제작 과정에 따라 다양한 강도를 가진다는 단점이 존재한다. 이번 실험에서도 HA block을 골결손부에 이식하는 과정에서 부서지는 경향을 보였다. 이것이 HA block과 임플란트와의 접근성을 떨어뜨리는 원인이 되었다. 하지만, BMP group의 경우에는 임플란트와 HA block간의 거리가 있는 경우에도 신생골 형성이 임플란트 주변까지 잘 된 것을 관찰할 수 있었다. BMD의 경우 PDGF group, BMP group 모두에서 측정값의 현저한 증가(PDGF group:9.3%, BMP group: 25.8%)를 보였다. BV가 일정 부피 안에서 골이 차지하는 부피의 비율을 의미하는 것과는 달리, BMD는 일정 부피 안에서 생성된 골조직의 평균 밀도를 의미하는 수치이다. 즉 같은 BV 값의 경우에도 해당 골의 밀도에 따라 그 값이 다를 수 있다. 결론적으로 같은 용량의 두 성장인자를 사용하였을 때 BV와 BMD의 경우에는 모두 측정값의 증가를 보였고, 증가한 정도는 BMP group의 경우가 더 컸다. 반면 BIC의 경우에는 BMP group에서만 그 값의 증가를 보였으나, 통계학적 유의성있는 차이는 없었다.

Micro-CT를 이용하여 타이타늄 임플란트 주변의 뼈를 관찰하는 것은 금속 artifact와 해상도의 문제로 인해 아직 조직절편을 이용하는 방법에 비해 한계가 있다. 초기에는 50 μ m 해상도로 삼차원 micro-CT를 촬영하여 관찰하였지만²⁶⁾, 최근에는 8 μ m⁴³⁾ 즉, 10 μ m미만의 해상도로 관찰할 수 있게 되었다. 따라서 medical CT의 1mm slice에 비교해 약 100배까지 높은 해상도를 보이지만, 조직절편에 비해서는 그 질이 떨어진다고 할 수 있다. 금속 artifact의 경우에는 beam hardening, scatter, nonlinear partial volume effect, noise등의 결과이다⁴⁴⁾. 이번 연구에서 사용된 알루미늄과 구리 필터는 secondary radiation과 streak artifact를 감소시켜 금속 artifact를 최소화하기 위한 것이었다.

특히, 임플란트의 중요한 예후인자인 BIC를 구하는 데 있어서 micro-CT는 한계가 있다. Stoppie⁴⁶⁾ 등은 타이타늄 임플란트 주위로 약 60 μ m(implant diameter: 3.5mm)의 blurred border가 존재한다고 보고하였고, Rebaudi⁴⁷⁾ 등은 그 두께가 45 μ m(implant diameter: 2.0mm)라고 하였다. 이는 실험에 사용된 임플란트의 두께가 달라, micro-CT 이미지의 artifact에 있어서도 차이가 나기 때문이라고 해석하였다⁴⁶⁾. 또한 두 연구에서 해상도도 24 μ m, 14 μ m로 서로 달랐다. 또 다른 연구들에서는 타이타늄 주변의 artifact가 거의 없었다는 보고에서부터³²⁾, blurred border의 두께가 165 μ m였다는 보고까지 다양하다⁴⁷⁾. 본 연구에서 타이타늄 임플란트 주위의 링모양 artifact는 일정한 두께로 보이지 않았으며, 그 두께는 25.4 μ m에서 가장 넓은 부분은 160 μ m까지 다양했다(Fig. 6). 따라서 micro-CT 상에서 임플란트 주위 뼈의 관찰은 임플란트 artifact만큼의 거리 이후에서부터 가능하다고 할 수 있다. 이번 연구에서 측정된 BIC 값도 마찬가지로 실제 임플란트 표면에서의 골접촉 여부 보다는 artifact 표면의 골접촉 여부를 평가했다고 할 수 있다. 하지만, 실제로 골접촉이 있는 부분은 artifact 두께 이상으로 뼈가 연속해서 있는 경우가 많으므로, 대략적인 BIC 값을 구할 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 임플란트 표면을 따라 얇게 분포하고 있는 뼈의 경우에는 관찰하기가 불가능하다고 생각된다. 특히 screw type의 임플란트의 apex 부분에서는 artifact가 심하여 임플란트 주변골 관찰이 불가능하였다. 매우 얇은 타이타늄으로 코팅된 polyethylene 임플란트가 이러한 금속 artifact를 최소화하여 micro-CT로 BIC를 연구할 수 있는 대안이 될 수 있다고 하였다⁴⁶⁾.

본 연구 결과에서 micro-CT와 조직절편 상에서의 측정값을 비교해 보면, BV의 경우에는 micro-CT 상에서 측정값이 일관되게 더 작게 나왔다. 이는 금속 artifact를 제거하는 과정에서 밀도가 낮은 신생골들이 같이 제거됐을 가능성이 있다. 또한 이번 연구에서 사용된 조직절편의 두께는

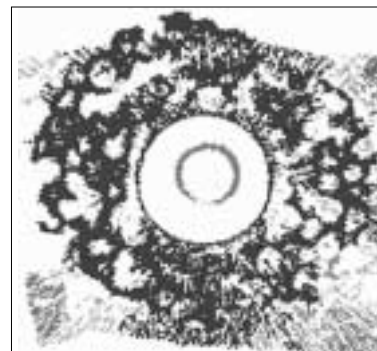


Fig. 6. The processed image: Implant portion was removed by threshold adjustment to investigate the ring shape metal artifacts around titanium implant more easily.

약 50 μ m이었으나, micro-CT 상의 slice 두께는 16 μ m이었다. 이것은 micro-CT 상에서 BV 측정값이 더 작게 나올 수 있는 하나의 원인이 된다. 한 연구에서는 조직절편에서 보다 micro-CT 상에서 BV 값이 높게(histology: 28.48%, micro-CT: 37.68%) 측정되었다고 하였는데, 이는 noise때문이라고 하였다⁴⁶⁾. 다른 연구에서는 그 값이 micro-CT에서보다 조직절편에서 더 높게 측정되었다고 하였다⁴⁷⁾. 따라서 micro-CT 상에서는 설정된 역치값에 따라 BV의 값이 실제값에 비해 높고 낮음이 결정된다고 할 수 있다. 역치값에 따른 BV 측정치의 변화에 대해 연구들을 살펴보면, 역치값의 변화에 따른 BV 값의 변화율이 각각 5%일 때 7.9%³¹⁾, 5%일 때 4%⁴⁵⁾, 10%일 때 5%⁴⁸⁾라고 하였다. 본 연구에서는 하나의 조직절편과 동일 평면의 micro-CT 이미지를 비교하여 역치값을 결정하였지만, 실제로 측정된 값들은 micro-CT와 조직절편 간에 모두 같은 ROI에서 측정되었다고 볼 수 없다. 그 이유는 micro-CT는 삼차원적인 이미지이고, 조직절편은 그 일부인 하나의 평면이기 때문이다. 따라서 조직절편이 없는 경우에 micro-CT에서 측정된 BV 값은 절대적인 값으로써 보다는, 조직샘플 간의 상대적인 비교에 의미가 있을 것으로 생각된다. 반면 이번 연구에서 BIC 측정값의 경우에는 조직절편에 비해 micro-CT 상에서 높은 값을 보였다. BIC 측정에 포함된 골조직이 모두 신생골임에도 불구하고 전체적으로 micro-CT 이미지에서 BIC가 높게 측정된 것은 금속 artifact가 임플란트 표면에 집중되어 뼈와의 구분이 힘들었을 것으로 생각된다.

V. 결 론

임플란트 주위의 큰 골 결손부에서 HA block과 rhPDGF-BB, rhBMP-2를 이용하여 골재생을 시행하였고, 그 결과를 micro-CT와 조직검사를 통해서 비교관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. HA block을 전달체로 하여 임플란트 주위 골 결손부에 성장인자 rhBMP-2를 사용했을 때, BV, BIC 및 BMD 값이 증가하였다.
2. HA block을 전달체로 하여 임플란트 주위 골 결손부에 성장인자 rhPDGF-BB를 사용하였을 때, BV 및 BMD 값이 증가하였으며, 그 정도는 rhBMP-2를 사용하였을 때보다는 작았다.
3. BV의 경우에는 micro-CT 상에서 측정한 값이 조직절편에서 측정한 값보다 낮았고, BIC 값의 경우에는 반대로 micro-CT 상에서 측정한 값이 조직절편에서 측정한 값보다 높았다.
4. Micro-CT는 비파괴적이고, 빠르고, 해면골의 삼차원적 관찰이 가능하다는 점에서 앞으로 임플란트 주변골

관찰에 중요한 방법이 될 것으로 생각된다. 하지만, micro-CT 촬영을 위한 setting 값들의 표준화가 이루어져야 하겠고, 금속 artifact를 효과적으로 제거하여 임플란트 표면에서의 신생골 관찰이 가능하도록 기술 개발이 필요하다.

References

1. Buser D, Dula K, Hess D *et al* : Localized ridge augmentation with autografts and barrier membranes. *Periodontology* 19 : 151, 1999.
2. Laurie SWS, Kaban LB, Mulliken JB *et al* : Donor site morbidity after harvesting rib and iliac bone. *Plastic and Reconstructive Surgery* 73 : 933, 1984.
3. Sommers BN, Eisenstein SM : Donor site pain from the ileum : a complication of lumbar spine fusion. *Journal of Bone and Joint Surgery* 71 : 677, 1984.
4. Younger EM, Chapman MW : Morbidity at bone graft donor sites. *Journal of Orthopedics Trauma* 3 : 192, 1989.
5. Friedlaender GE, Horowitz MC : Immune responses to osteochondral allografts: nature and significance. *Orthopedics* 15(10) : 1171, 1992.
6. Carlson ER, Marx RE, Buck BE : The potential for HIV transmission through allogeneic bone. A review of risks and safety. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 80(1) : 17, 1995.
7. Langer R, Vacanti JP : Tissue engineering. *Science* 260 : 920, 1993.
8. Yamada Y, Ueda M, Naiki T *et al* : Tissue-engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. *Clin Oral Implants Res* Oct : 15(5) : 589, 2004.
9. Ito K, Yamada Y, Naiki T *et al* : Simultaneous implant placement and bone regeneration around dental implants using tissue-engineered bone with fibrin glue, mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. *Clin Oral Implants Res* 17(5) : 579, 2006.
10. Vacanti JP, Langer R : Tissue engineering; the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation. *Lancet* 354(Suppl.1) : S132, 1999.
11. Bucholz RW, Carlton A, Holmes RE : Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitute. *Orthop Clin North Am* 18 : 323, 1987.
12. Radin SR, Ducheyne P : Effect of bioactive ceramic composition and structure on in vitro behavior. III: porous versus dense ceramics. *J Biomed Mater Res* 28 : 1303, 1994.
13. Redey SA, Razzouk S, Rey C *et al* : Osteoclast adhesion and activity on synthetic hydroxyapatite, carbonated hydroxyapatite, and natural calcium carbonate : relationship to surface energies. *J Biomed Mater Res* 45 : 140, 1999.
14. Horner A, Bord S, Kemp P *et al* : Distribution of platelet-derived growth factor(PDGF) A chain mRNA, protein and PDGF-alpha receptor in rapidly forming human bone. *Bone* 19 : 353, 1996.
15. Urist MR : Bone Formation by autoinduction. *Science* 150 : 893, 1965.
16. Urist MR, DeLange RJ, Finerman GAM : Bone cell differentiation and growth factors. *Science* 220 : 680, 1983.
17. Urist MR, Huo YK, Brownell AG *et al* : Purification of bovine bone morphogenetic protein by hydroxy apatite chromatography. *proc Natl Acad Sci USA* 81 : 371, 1984.
18. Yasko AW, Cole BJ, Lane JM *et al* : The healing of seg-

- mental bone defects induced by rhBMP-2. *J Bone Joint Surg Am* 74A : 659, 1992.
19. Miamoto S, Takaoka K, Yoshikawa H *et al* : Trans-filter bone induction in monkeys by BMP. *Trans ORS* 99, 1993.
 20. Sigurdsson TJ, Fu E, Tatakis DN *et al* : Bone morphogenetic protein-2 for peri-implant bone regeneration and osseointegration. *Clin Oral Implants Res* 8 : 367, 1997.
 21. Jovanovic SA, Hunt DR, Bernard GW *et al* : Long-term functional loading of dental implants in rhBMP-2 induced bone. A histologic study in the canine ridge augmentation model. *Clin Oral Implants Res* 14 : 793, 2003.
 22. Sorensen RG, Wikesjö UM, Kinoshita A *et al* : Periodontal repair in dogs: Evaluation of a bioresorbable calcium phosphate cement (Ceredex) as a carrier for rhBMP-2. *J Clin Periodontol* 31 : 796, 2004.
 23. Cochran DL, Nummikoski PV, Jones AA *et al* : Radiographic analysis of regenerated bone around endosseous implants in the canine using recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Oral Maxillofac Implants* 12 : 739, 1997.
 24. Cochran DL, Schenk R, Buser D *et al* : Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implants. *J Periodontol* 70 : 139, 1999.
 25. Donath K, Breuner G : A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. *J Oral Pathol* 11 : 318, 1982.
 26. Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt AM *et al* : The direct examination of three-dimensional bone architectures in vitro by computed tomography. *J Bone Miner Res* 4 : 3, 1989.
 27. Kapadia RD, Stroup GB, Badger AM *et al* : Applications of micro-CT and MR microscopy to study pre-clinical models of osteoporosis and osteoarthritis. *Technol Health Care* 6 : 361, 1998.
 28. Verna C, Bosch G, Dalstra M *et al* : Healing patterns in calvarial bone defects following guided bone regeneration in rats. A micro-CT scan analysis. *J Clin Periodontol* 29 : 865, 2002.
 29. Patel V, Issever AS, Burghardt A *et al* : Micro-CT evaluation of normal and osteoarthritic bone structure in human knee specimens. *J Orthop Res* 21 : 6, 2003.
 30. Balto K, Müller R, Garrington DC *et al* : Quantification of periapical bone destruction in mice by micro-computed tomography. *J Dent Res* 79 : 35, 2000.
 31. Giesen EB, van Eijden TM : The three-dimensional cancellous bone architecture of the human mandibular condyle. *J Dent Res* 79 : 957, 2000.
 32. Van Oosterwyck H, Vander Sloten J, Van der Perre G *et al* : The use of microfocus computerized tomography (micro-CT) as a new technique to characterize bone tissue around oral implants. *J Oral Implantol* 26 : 5, 2000.
 33. Sennerby L, Wennerberg A, Pasop F : A new microtomographic technique for non-invasive evaluation of the bone structure around implants. *Clin Oral Implants Res* 12 : 91, 2001.
 34. Bergmans L, Van Cleynenbreugel J, Wevers M *et al* : A methodology for quantitative evaluation of root canal instrumentation using microcomputed tomography. *Int Endod J* 34 : 390, 2001.
 35. Jones AA, Buser D, Schenk R *et al* : The effect of rhBMP-2 around endosseous implants with and without membranes in the canine model. *J Periodontol* 77(7) : 1184, 2006.
 36. Meraw SJ, Reeve CM, Lohse CM *et al* : Treatment of peri-implant defects with combination growth factor cement. *J Periodontol* 71(1) : 8, 2000.
 37. Rocchietta I, Dellavia C, Nevins M *et al* : Bone regenerated via rhPDGF-BB and a deproteinized bovine bone matrix: back scattered electron microscopic element analysis. *Int J Period Restr Dent* 27(6) : 539, 2007.
 38. Simion M, Rocchietta I, Kim D *et al* : Vertical ridge augmentation by means of deproteinized bovine bone block and recombinant human platelet-derived growth factor-BB: a histologic study in a dog model. *Int J Period Restr Dent* 26 : 415, 2006.
 39. Tsiridis E, Bhalla A, Ali Z *et al* : Enhancing the osteoinductive properties of hydroxyapatite by the addition of human osteogenic protein-1(BMP-7) in vitro. *Injury, Int J Care injured* 37S : S25, 2006
 40. Yoshikawa H, Akira M : Bone tissue engineering with porous hydroxyapatite ceramics. *J Artif Organs* 8 : 131, 2005.
 41. Mosekilde L : Consequences of the remodelling process for vertebral trabecular bone structure: A scanning electron microscopy study (uncoupling of unloaded structures). *Bone miner* 10 : 13, 1990.
 42. Odgaard A, Andersen K, Melsen F *et al* : A direct method for fast three-dimensional serial reconstruction. *J Microsc* 159 : 335, 1990.
 43. Butz F, Ogawa T, Chang TL *et al* : *Int J Oral Maxillofac Implants*. 21(5) : 687, 2006.
 44. Suetens P : *Fundamentals of medical imaging*. Cambridge, UK : Cambridge University Press p.85, 2002.
 45. Stoppie N, Van Der Waerden JP, Jansen JA *et al* : Validation of microfocus computed tomography in the evaluation of bone implant specimens. *Clin Implant Dent Relat Res* 7:87, 2005.
 46. Rebaudi A, Koller B, Laib A *et al* : Microcomputed tomographic analysis of the peri-implant bone. *Int J Periodontics Restorative Dent* 24 : 316, 2004.
 47. Stoppie N, Wevers M, Naert I : Feasibility of detecting trabecular bone around percutaneous titanium implants in rabbits by in vivo microfocus computed tomography. *J Microsc* 228(Pt1) : 55, 2007.
 48. Rügsegger P, Koller B, Müller R : A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture. *Calcif Tissue Int* 58 : 24, 1996.

저자 연락처

우편번호 110-768
서울 종로구 연건동 28번지
서울대학교 치의학대학원 구강악안면외과학 교실
황순정 / 김명진

원고 접수일 2009년 10월 27일
게재 확정일 2009년 11월 13일

Reprint Requests

Sun-Jung Hwang/Myung-Jin Kim
Dept. of OMFS, College of Dentistry, Seoul National University
28 Yeongeong-dong, Jongro-gu, Seoul, 110-768 Korea
Tel: 82-2-2072-3061 Fax: 82-2-766-4948
E-mail: sjhwang@snu.ac.kr / myungkim@snu.ac.kr

Paper received 27 October 2009
Paper accepted 13 November 2009