

가토 두개골 결손 모델에서 Bioglass가 첨가된 불소화 수산화인회석의 골재생능력

안효준 · 한세진 · 김경욱

단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011;37:380-5)

Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bio-glass in the rabbit cranium defect model

Hyo-Joon Ahn, Se-Jin Han, Kyung-Wook Kim

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Dankook University, Cheonan, Korea

Introduction: Hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HA) is the main inorganic phase of human hard tissue that is used widely as the repair material for bones. When HA is applied to a bony defect, however, it can be encapsulated with fibrous tissue and float in the implanted area due to a lack of consolidation. Bioceramics as allogenic graft materials are added to HA to improve the rate and bone healing capacity. Fluoridated hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH},\text{F})_2$, FHA), where F- partially replaces the OH- in hydroxyapatite, is considered a good alternative material for bone repair owing to its solubility and biocompatibility.

Materials and Methods: This study was designed to determine the bone healing capacity of FHA newly produced as a nanoscale fiber in the laboratory. HA and FHA with bioglass was implanted in a rabbit cranium defect and the specimen was analysed histologically.

Results: 1. At 4 weeks, fibrous connective tissue and little bone formation was observed around the materials of the experimental group I implanted HA and bioglass. Newly formed bone was observed around the materials in the experimental group II implanted FHA and bioglass. 2. At 8 weeks, the amount of newly formed and matured bone was higher in experimental group II than in experimental group I and the control group.

Conclusion: These results suggest that FHA and bioglass is a relatively favorable bone substitute with biocompatibility and better bone healing capacity than pure HA and bioglass.

Key words: Durapatite, Fluor-hydroxylapatite, Bioglass, Bone Substitutes

[paper submitted 2011. 5. 6 / revised 2011. 9. 30 / accepted 2011. 9. 29]

I. 서 론

치조제의 보존 및 회복을 위해 골이식술은 가장 보편화된 치료 방법으로 받아들여지고 있으며, 따라서 골이식재료에 대한 개발과 연구가 현재 활발히 진행되고 있다. 골이식재료의 종류로는 자가골, 동종골, 이종골, 합성 골이식재료로 크게 나뉘어 지며, 이러한 골 이식재료들의 이상적인 요건으로는 즉시 사용이 가능하고, 면역반응을 일으키지 말아야 하며, 빠른 골생성 및 재혈관화를 촉진하여야 하며, 또한 골의 지지와 연속성을 유지하는 등의 기본적인 조건을 만족시킬 수 있어야 한다¹. 현재까지 이러한 조건을 가

장 많이 충족시키는 골이식재는 자가골에 국한되어 있다. 하지만, 자가골은 채취할 수 있는 골량에 한계가 있고 공여부의 추가적인 수술이 필요하다는 단점 때문에 실제 임상에서는 자가골을 대체하는 동종골, 이종골, 합성골들이 많이 사용되고 있으며, 각 이식재료들의 단점을 극복하기 위해서 혼합하여 적용하는 경우가 많아지고 있다.

합성 골이식재 중 대표적인 수산화인회석(hydroxyapatite, HA)은 인간의 신체 중 경조직을 구성하는 주요 무기질로서, 우수한 biocompatibility 특징으로 오래 전부터 골 대체 이식재료로 사용되어왔다. 하지만, HA는 임상적으로 적용 시 신생골의 낮은 침착 속도와 낮은 형성 밀도라는 문제점을 가지고 있다^{2,4}. 따라서 이러한 단점을 극복하기 위해 생활성 유리질인 bioglass와 함께 이식부에 이식되기도 한다.

또한 최근에는 순수한 HA를 기본으로 하여 일련의 과정을 통해 합성한 Fluor- hydroxyapatite($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH},\text{F})_2$, FHA)가 개발되어 더 좋은 생체 적합성과 더 효율적인 골재생을 도모하게 되었다^{5,6}. FHA는 순수한 HA의 수산화기(OH-)를 부분적으로 불소이온(F-)이 대체한 fluoridated

김 경 욱

330-716 충남 천안시 신부동 산 7-1번지
단국대학교 치과대학 부속 치과병원 구강악안면외과

Kyung-Wook Kim

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Dental Hospital,
Dankook University

San 7-1, Sinbu-dong, Cheonan, 330-716, Korea
TEL: +82-41-550-1994 FAX: +82-41-551-8988
E-mail: kkwoms@dku.edu

form이다. FHA는 생체 적합성이 우수하며 HA에 비해 더 높은 화학적, 열 안정성을 가질 뿐만 아니라, 불소 이온(F-) 방출로 인해서 조골 세포 등의 증식 및 세포 활성도를 촉진시키는 장점을 갖고 있다^{7,8}.

FHA는 powder, coating, bulk bodies, fibers 등 다양한 형태로 제작이 가능하지만, 이 중 fiber 형태가 세포 생착 및 세포 활성도(bio activity)에 가장 유리한 구조라고 알려져 있고 최근 관심을 받고 있는 나노 섬유 형태가 더욱 더 좋은 세포 활성도를 제공한다고 한다⁹.

이에 저자는 가토 두개골 결손 모델에 생활성 유리질을 첨가한 기존의 HA와 나노화이버 형태로 합성된 FHA를 각각 이식하여 그 골치유 능력을 조직학적으로 비교 평가하고자 하였다.

II. 연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

실험동물로는 일정기간 동안 동일 조건에서 사육된 체중 3kg 내외의 자성 가토 13마리를 사용하였다. 대조군 3마리, 실험 I군 5마리, 실험 II군 5마리 씩 분류하였으며, 이식 재료로는 hydroxyapatite (Alfa Aesar, Ward Hill, MA, USA)와 fluoridated hydroxyapatite (synthesized in Lab, Korea), bioglass (US Biomaterials Co., Jacksonville, FL, USA)를 사용하였다.

2. 연구 방법

1) 동물 실험

실험 I, II군, 대조군 모두 Ketamine hydrochloride (Ketalar, Yuhan Co., Seoul, Korea) 10 mg/kg 및 0.15 mL/kg의 2% xylazine hydrochloride (Rumpun, Bayer Korea, Seoul, Korea)을 근주하여 마취시키고 두개부에 털을 제거하고 베타딘 용액으로 소독한 후, 지혈을 목적으로 1:100,000의 epinephrine이 함유된 0.2% lidocaine hydrochloride (Lidocaine HCl, Huons Co., Hwaseong, Korea)을 침윤 주사하였다. 절개 후 두개골을 노출시켜 버(burr)를 이용하여 직경 10 mm의 결손부를 형성한 후 실험 I군은 HA와 bioglass를 매식하였고 실험 II군은 FHA와 bioglass를 매식하였다. 매식 후 흡수성 봉합사로 층별 봉합을 시행하였으며 모든 실험은 통상적인 방법에 따라 무균적으로 시술하였다.

2) 희생

대조군, 실험 I, II군을 각각 4주, 8주째에 나누어 희생시킨 후 결손 부위 노출 후 결손부를 포함한 두개골 전체를 채취하였고, 10% 중성 포르말린에 고정하였다.

3) 표본 제작

10% 중성 포르말린에 고정시킨 채취 표본을 5% 질산으로

3일 동안 탈회를 시행하고 통상적인 방법에 따른 탈수, 명화 과정을 거쳐 4 μ m 파라핀 절편을 제작한 후 Hematoxyline & Eosin (H&E) 및 Masson's Trichrome (MT) 염색을 시행하였고, 광학현미경으로 골치유 과정을 관찰하였다.

III. 결 과

1. 육안 소견

1) 대조군

4주째 섬유성 조직으로 채워진 골결손부를 얇은 막의 형태로 골막이 덮고 있었으며, 8주째는 골막 하방으로 골양 조직이 관찰되었다.

2) 실험군 I (HA + bioglass 이식군)

4주째 결손 부위에 채워진 이식재 입자로 여겨지는 부분이 관찰되었으며 연조직의 개입도 없었다. 8주째에도 마찬가지로 이식재의 입자로 여겨지는 부분이 관찰되었지만, 정상골과의 경계는 4주째 소견에 비해 다소 불분명하였다.

3) 실험군 II (FHA + bioglass 이식군)

4주째 골막의 연속성은 유지되었으며, 연조직의 개입도 관찰되지 않았다. 8주에는 4주째와 비교하여 정상골과의 경계부가 더 불분명하게 관찰되었다.

2. H&E 염색 소견

1) 대조군

4주째에는 상당히 치유가 진행된 혈관이 정상적인 형태를 보여주며, 섬유성 결합조직이 결손부를 덮고 있다. 염증 소견은 관찰되지 않으며, 8주째에는 4주에 비해 성숙된 골의 형태가 관찰되었다.(Fig. 1)

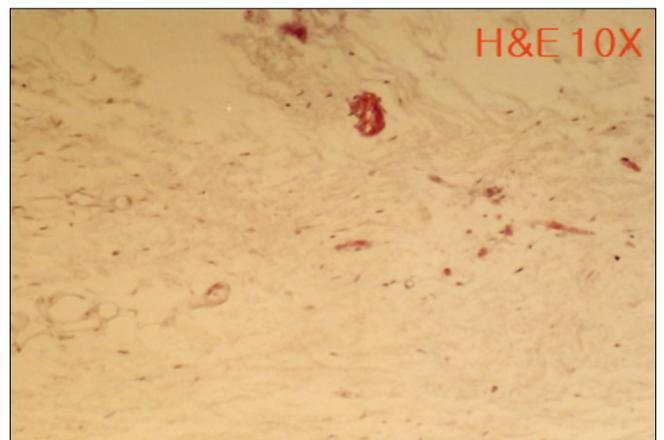


Fig. 1. H&E staining findings of control group, 4 weeks ($\times 10$).
Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bioglass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

2) 실험군 I (HA + bioglass 이식군)

4주째에는 이식재 주변에 다수의 미분화간엽세포들이 관찰되며, 섬유성 결합 조직이 형성된 소견을 보였다. 8주째에는 이식재에 인접한 부분은 물론 이식재 내부에서도 골이 형성되는 소견이 4주째에 비해 더욱 뚜렷이 관찰되었다.(Figs 2, 3)

3) 실험군 II (FHA + bioglass 이식군)

4주째 표본에서는 탈회 제작과정에서 이식재가 빠져나간 공간과 그 사이로 형성된 결합조직이 관찰되며 염증 소견은 관찰되지 않았다. FHA가 있던 인접주위에 신생골의 침착 및 흡수가 진행되고 있는 소견을 보였다. 8주째에는 4주에 비해 이식재 주변으로 골조직이 형성된 것이 관찰되었다.(Figs. 4, 5)

3. MT 염색 소견

1) 대조군

8주째에는 4주째에 비하여 결손부 인접골로부터 성숙된 골이 증가하였다.(Figs. 6, 7)

2) 실험군 I (HA + bioglass 이식군)

4주째에 이식재 사이 공간으로 미세한 콜라겐 섬유가 형성되어 있으며 결손부 하부로부터 골의 형성이 진행되고 있는 양상을 보였다. 8주째에는 이식재에 인접한 부분은 물론 이식재 내부에서도 골이 형성되는 소견이 4주째에 비해 더욱 뚜렷이 관찰되었다.(Figs. 8, 9)

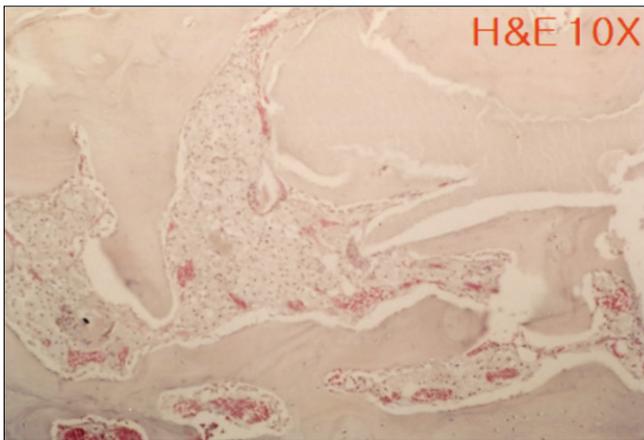


Fig. 2. H&E staining findings of experimental group I, 4 weeks ($\times 10$).

Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bioglass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

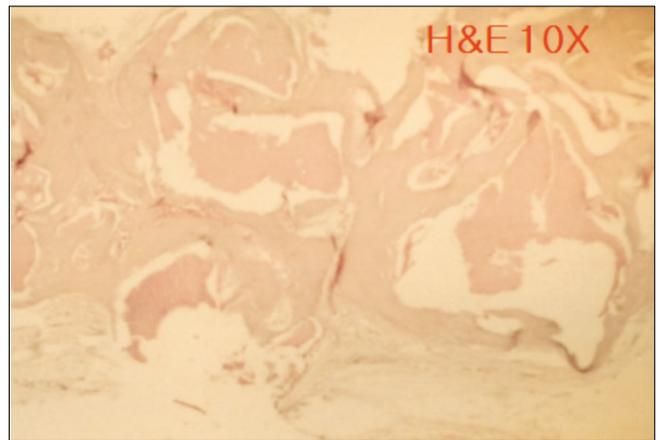


Fig. 3. H&E staining findings of experimental group I, 8 weeks ($\times 10$).

Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bioglass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

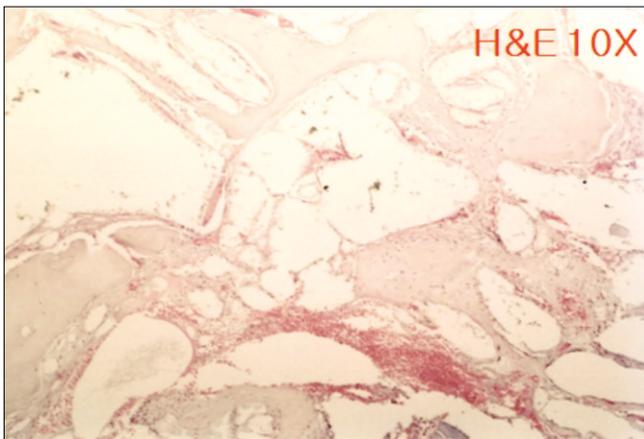


Fig. 4. H&E staining findings of experimental group II, 4 weeks ($\times 10$).

Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bioglass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

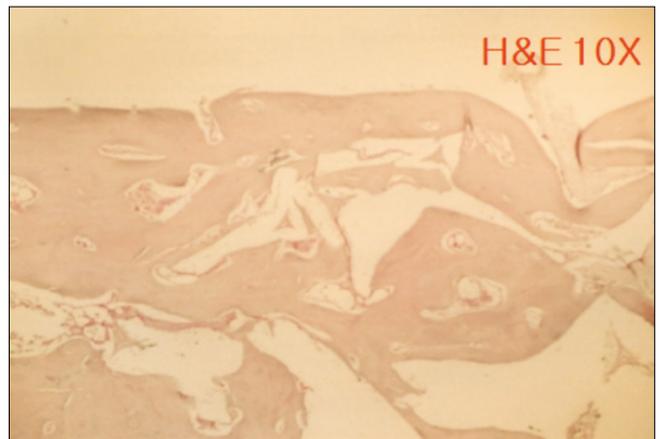


Fig. 5. H&E staining findings of experimental group II, 8 weeks ($\times 10$).

Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bioglass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

3) 실험군 II (FHA + bioglass 이식군)

4주째 소견으로 이식재 주변으로 골조직이 형성되는 양상을 보이나, 이식재와는 미세한 결합조직으로 분리되어

있었다. 8주째는 4주째와 비교하여 다량의 성숙된 골의 형성이 관찰되었다.(Figs. 10, 11)

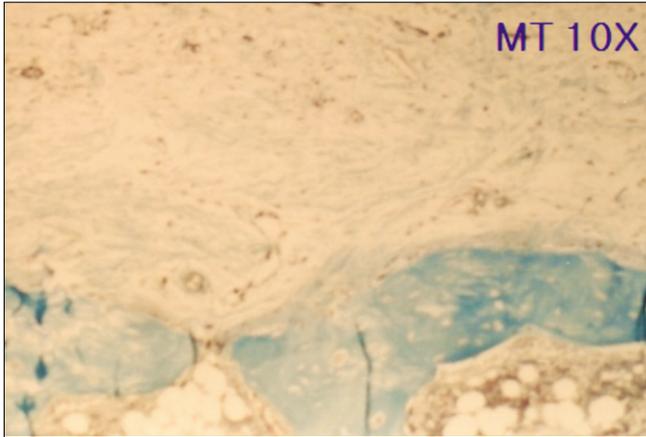


Fig. 6. MT staining findings of control group, 4 weeks (×10).
Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bio-glass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

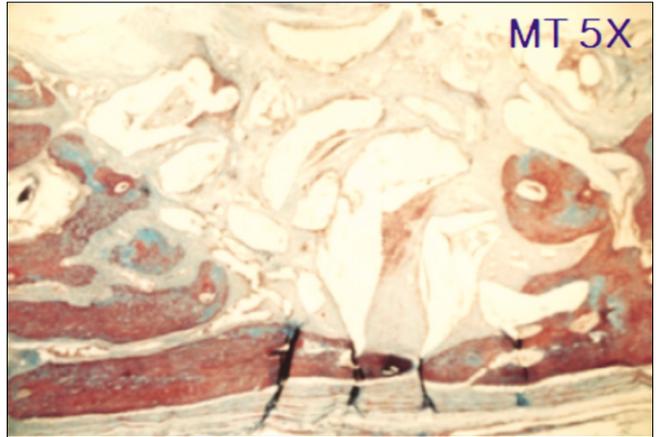


Fig. 7. MT staining findings of control group, 8 weeks (×5).
Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bio-glass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

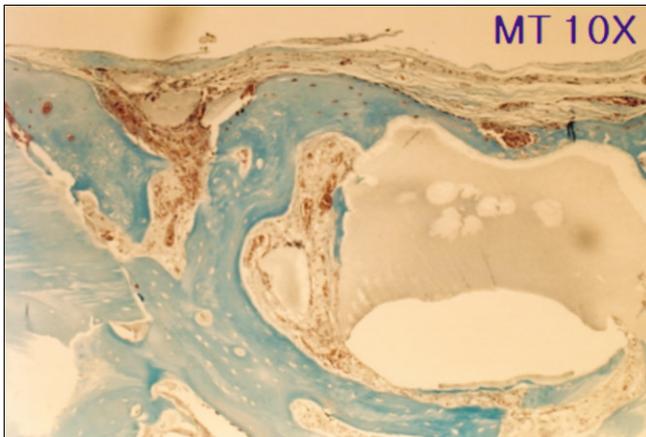


Fig. 8. MT staining findings of experimental group I, 4 weeks (×10).
Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bio-glass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

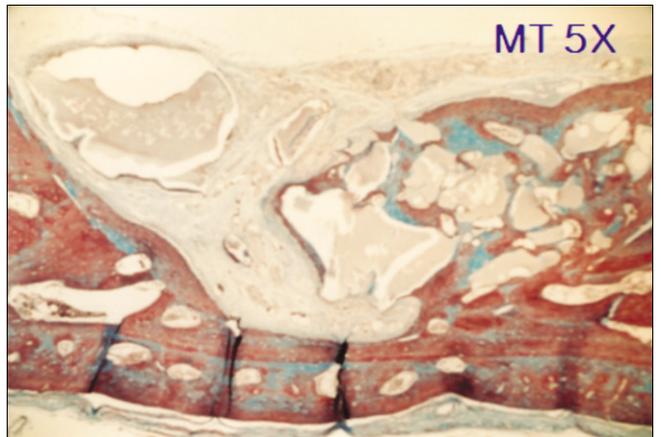


Fig. 9. MT staining findings of experimental group I, 8 weeks (×5).
Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bio-glass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

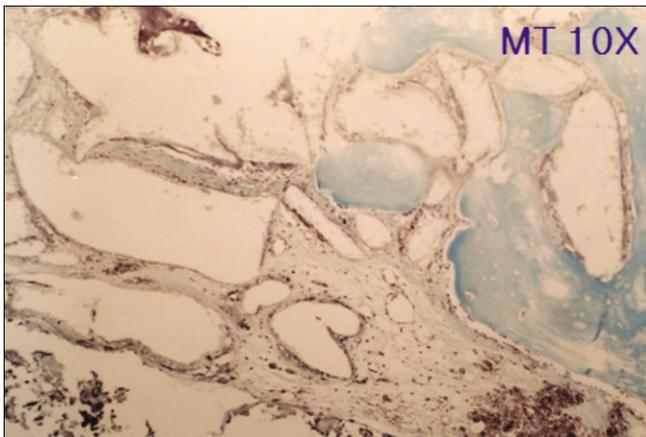


Fig. 10. MT staining findings of experimental group II, 4 weeks (×10).
Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bio-glass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

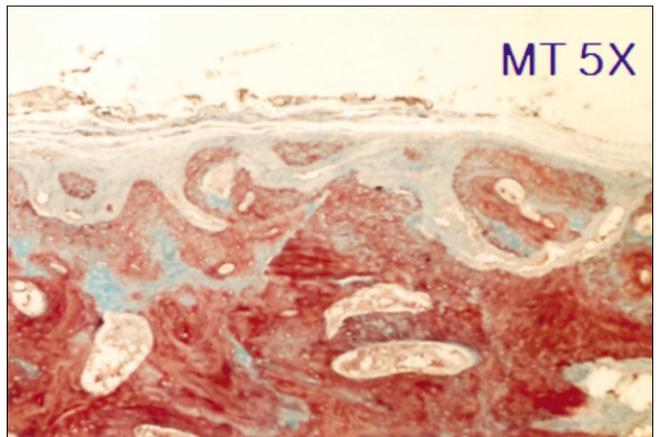


Fig. 11. MT staining findings of experimental group II, 8 weeks (×5).
Hyo-Joon Ahn et al: Bone regeneration of the fluoridated hydroxyapatite and the bio-glass in the rabbit cranium defect model. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011

Ⅳ. 고 찰

임플란트가 치과 진료의 중요한 부분으로 자리잡게 되면서 골 결손부에 대한 치료 방법 및 생체 이식재료에 대한 연구도 활발히 이루어지게 되었다. 골결손을 재건하는 방법은 이식(graft)과 매식(implant)의 두 가지로 구분할 수 있다. 골이식은 공여부에 따라 자가골과 동종골 및 이종골로 구분되며 매식재로 사용되는 물질은 고분자 화합물과 금속이 있다. 골이식 후의 치유과정은 기본적으로 염증과정이며 시간의 경과에 따라 출혈과 염증 반응, 재혈관화, 골유도가 연속적으로 일어난다^{10,11}. 초기 단계는 어느 창상 치유과정과 다를 바 없이 염증반응으로부터 시작된다. 혈소판이 창상 부위로 운집되어 창상 변연 부위에서의 출혈을 제어하기 위하여 활성화된다. 활성화된 혈소판은 초기의 혈병을 형성하여 물리적으로 출혈을 방지하고 세포 내의 과립들을 기질내로 분비한다. 또한 대식세포의 활동기간은 7일을 넘지 않으며 점차 조골세포에 의한 골 형성 과정이 두드러진다. TGF- β , IGF, FGF 등과 함께 조골세포에서 bone morphogenetic protein이 분비되기 시작하는데 알려져 있다시피 이는 매우 강력한 골유도 물질로서 주변의 미분화간엽세포로부터 조골세포로의 commitment를 주도하여 조골세포 분화의 핵심 요소로 작용한다¹². 골재생 1상에 접어들면 조골세포에 의하여 형성된 골양 조직이 골화되어 교직골(woven bone)을 만들어낸다. 이때 만들어진 교직골은 세포성이고 방향이 일정치 않은 침상체를 가진 미성숙골로서 물리적인 외부 자극에는 아직 취약하다. 골기질은 오직 조골세포에 의해서만 생성되고 기질 자체는 단지 석회화될 뿐이며 내재적인 성장 경향은 전무하여 골기질의 증가는 오로지 조골세포의 추가적인 유인에 의한 기질의 첨가에 의해서만 가능하다. 조골세포의 유인은 치유 초기 2주에 국한되므로 골치유의 가장 중요한 단계는 사실상 석회화 이전의 시기에 이미 결정된다고 본다. 골재생 2상에서는 외부의 기계적 자극에 반응하여 골개조(remodeling)가 일어나며 이 결과 층판골(lamellar bone)이 형성되어 외부 자극에 적응된 효율적인 구조를 갖는다. 골개조에 있어서 파골세포와 조골세포의 조화로운 기능이 필수적인데 파골세포의 분화에 조골세포의 역할이 지대하다^{13,15}.

한편, 골이식재는 크게 세 가지 과정을 거쳐 골을 형성한다. 골형성(osteogenesis)은 이식재 안에 살아 남아있는 조골세포(osteoblast)와 전조골세포(preosteoblast)가 매식부 주위에서 골화반응(osteogenic response)을 일으킬 수 있는 능력을 가짐으로써 신생골이 형성되는 것을 말하며 자가골이 이에 해당한다. 골유도(osteoinduction)는 매식부 내의 화학주성을 가진 물질이 매식부 인접 조직의 미분화 간엽세포(undifferentiated mesenchymal cell)들을 조골세포(chondroblast) 또는 조골세포로 변환, 유도하여 골형성이 이루어지게 하는 것이다. 마지막으로 골전도(osteochonduction)는 이식부 주위 골의 분화된 간엽세포(differentiated mesen-

chymal cell)들이 조연골 세포, 조골세포들을 제공하여 이식된 물질을 기질로 하여 골을 형성하는 것을 말하며 합성 골이식재가 이에 해당한다¹⁶⁻¹⁸.

HA는 인간의 신체 중 경조직을 구성하는 주요 무기질로서, 우수한 생체 적합성이 특징으로 매식부에 광물 저장기(mineral reservoir)로 작용하여 오래 전부터 뼈에 대한 대체 이식재로 사용되어왔다. 하지만, HA는 임상적으로 적용시 때때로 섬유조직에 의한 피낭화가 일어나고 생리적 하중을 받는 상태에서 인접골과의 접촉면으로부터 괴리되는 문제점을 가지고 있다²⁴.

한편, bioglass는 생활성 유리질(bioceramics)로 생체내 골격이나 치아에서의 비율과 유사하게 구성된 칼슘염과 인산염을 포함하며, 골 광화에 필수적인 나트륨염과 규산염도 포함하는 합성골이식재이다. 비정질의 세라믹 형태(amorphous ceramics)로 숙주세포와의 반응 속도가 상대적으로 빠르고 결합조직 내 교원질과 결합하는 능력이 있어 HA와 혼합 사용하면 신생골 침착속도와 신생골 밀도를 더욱 증가시킨다고 알려져 있다¹⁹.

순수한 HA를 기본으로 불소 이온을 결합시켜 합성된 FHA는 HA의 불소화합물로 생체 적합성이 우수하며 HA에 비해 더 높은 화학적, 열 안정성을 가질 뿐만 아니라, 불소 이온 방출로 인해서 조골세포 등의 증식 및 세포 활성도를 촉진시키며^{7,8} nanofiber 형태로 만들 경우, 세포생각 및 세포 활성도에 가장 유리한 구조라고 알려져 있다²⁰.

Rho 등²¹은 동물실험 결손모델에서 HA와 nanofiber형태의 FHA의 골형성능력을 비교한 결과, FHA의 경우에서 더 좋은 골수복이 관찰되었다고 하였으며, HA의 경우에는 자연 치유된 대조군에 비해서도 골수복 결과가 좋지 않았다고 하였다. 본 실험에서도 마찬가지로 HA와 bioglass 매식 실험군에 비해 FHA와 bioglass 매식 실험군에서 미세하게 더 좋은 골형성능력을 보여주었다. 하지만, HA를 단독으로 매식했던 Rho 등²¹의 실험결과와는 달리 본 실험의 bioglass를 함께 매식한 HA 매식군은 대조군에 비해 현저히 우수한 골형성 능력을 나타냈다.

Ⅴ. 결 론

HA는 인간의 신체 중 경조직을 구성하는 주요 무기질로, 우수한 biocompatibility 특징으로 오래전부터 뼈에 대한 대체 이식재로 사용되어왔다. 하지만, HA는 임상적으로 적용시 신생골의 낮은 침착 속도와 신생골의 낮은 형성 밀도라는 문제점을 가지고 있다. 따라서 이러한 단점을 극복하기 위해 생활성 유리질인 bioglass와 함께 이식부에 이식되기도 한다. 또한 최근에는 순수한 HA를 기본으로 하여 일련의 과정을 통해 합성한 FHA가 개발되어 더 좋은 생체 적합성과 더 효율적인 골재생을 도모하게 되었다. 이에 저자는 가토 두개골 결손 모델에 bioglass를 첨가한 기존의 HA와 나노하이브리드 형태로 합성된 FHA를 각각 이식하여 그 골

치유능력을 조직학적으로 비교 평가하고자 하였다.

실험동물로는 일정기간 동안 동일 조건에서 사육된 가토 13마리를 이용하여 두개부에 직경 10 mm의 골결손부를 형성한 후 대조군, HA와 bioglass 매식 실험군 I 및 FHA와 bioglass 매식 실험군 II로 각각 3마리, 5마리, 5마리씩 배정하고 실험 4주, 8주에 이식편을 채취하여 H&E 염색 및 MT 염색을 통해 그 조직학적 양상을 비교 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 4주째 소견에서 HA+bioglass 실험군은 이식재 주변에 많은 신생골이 형성되는 소견을 보였으며, FHA+bioglass 실험군은 이식재 주변으로 성숙된 골질이 관찰되며 골치유 능력이 있는 것으로 관찰되었다.
2. 8주째 소견에서 HA+bioglass 실험군은 이식재가 밀집된 부위에서 특히 많은 골조직이 형성되어 골대체 능력이 우수한 것으로 나타났으며, FHA+bioglass 실험군은 비록 미약하지만 골유도 능력이 관찰되었고 왕성한 골대체 치유 능력이 있으며 주변에 형성된 골의 양이 대조군 및 실험군 I에 비해 더 많게 관찰되었다.

이상의 소견으로 순수 HA에 bioglass를 추가 이식한 경우, 신생골 침착 속도와 신생골 밀도가 더 증가된다는 것을 확인할 수 있었으며, 새로이 합성 개발된 FHA와 bioglass의 조합이 더 활발한 골치유 능력을 나타낸다는 것을 관찰할 수 있었다. 향후 실제 임상 적용에서 이와 같은 이식재의 조합이 더 좋은 결과를 나타내리라 생각한다.

References

1. Boyne PJ. Induction of bone repair by various bone grafting materials. In: Elliott K, Fitzsimons DW, Boyne PJ, eds. *Hard Tissue Growth, Repair and Remineralization*(Ciba Foundation Symposium 11). New York: Associated Scientific Publishers; 1973:121-5.
2. Costantino PD, Friedman CD. Synthetic bone graft substitutes. *Otolaryngol Clin North Am* 1994;27:1037-42.
3. Orearuno S, Lekovic V, Kenney EB, Carranza FA Jr, Takei HH, Prokic B. Comparative clinical study of porous hydroxyapatite and decalcified freeze-dried bone in human periodontal defects. *J Periodontol* 1990;61:399-405.
4. Papay FA, Morales L Jr, Ahmed OF, Neth D, Reger S, Zins J. Comparison of ossification of demineralized bone, hydroxyapatite, Gelfoam, and bone wax in cranial defect repair. *J Craniofac Surg* 1996;7:347-51.
5. Driessens FC. Relation between apatite solubility and anti-cariogenic effect of fluoride. *Nature* 1973;243:420-1.
6. Okazaki M, Miake Y, Tohda H, Yanagisawa T, Matsumoto T, Takahashi J. Functionally graded fluoridated apatites. *Biomaterials* 1999;20:1421-6.
7. LeGeros RZ, Silverstone LM, Daculsi G, Kerebel LM. *In vitro* caries-like lesion formation in F-containing tooth enamel. *J Dent Res* 1983;62:138-44.
8. Marie PJ, De Vernejoul MC, Lomri A. Stimulation of bone formation in osteoporosis patients treated with fluoride associated with increased DNA synthesis by osteoblastic cells *in vitro*. *J Bone Miner Res* 1992;7:103-13.
9. Kim HW, Kim HE. Nanofiber generation of hydroxyapatite and fluor-hydroxyapatite bioceramics. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2006;77:323-8.
10. Katagiri T, Takahashi N. Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation. *Oral Dis* 2002;8:147-59.
11. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. *Tissue Engineering. Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Chicago: Quintessence Publishing Group; 1999.
12. Frost HM. *Bone remodelling Dynamics*. Springfield: Thomas CC 1963.
13. Frost HM. *Intermediary Organization of the Skeleton*. BocaRaton: CRC Press 1986.
14. Robling AG, Castillo AB, Turnern CH. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Ann Rev Biomed Eng* 2006;8:455-98.
15. Canalis E, Economides AN, Gazzo E. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocr Rev* 2003;24:218-35.
16. Glowacki J, Mulliken JB. Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. *Plast Reconstr Surg* 1980;65:553-60.
17. Kaban LB, Mulliken JB, Glowacki J. Treatment of jaws defects with demineralized bone implants. *J Oral Maxillfac Surg* 1982;40:623-6.
18. Einhorn TA, Lane JM, Burstein AH, Kopman CR, Vigorita VJ. The healing of segmental bone defects induced by demineralized bone matrix. A radiographic and biomechanical study. *J Bone Joint Surg Am* 1984;66:274-9.
19. Fenter AE, Hartigan MS, Low SB. Periodontal repair using PerioGlas in nonhuman primates: clinical and histologic observations. *Compendium* 1994;15:932, 935-8.
20. Kim HW, Lee EJ, Kim HE, Salih V. Effect of fluoridation of hydroxyapatite in hydroxyapatite-polycaprolactone composites on osteoblast activity. *Biomaterials* 2005;26:4395-404.
21. Rho KS, Han SJ, Kim CH, Kim KW. Bone healing capacity of the new fluoridated hydroxyapatite in the rabbit cranium defect. *J Korean Oral Maxillofac Surg* 2007;33:464-9.