



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2016년 2월
석사학위논문

성견에서 치아재식시
혈소판 풍부 혈장의 효과

조선대학교 대학원

치 의 학 과

양 준 모

성견에서 치아재식시 혈소판 풍부 혈장의 효과

Effect of platelet-rich plasma on
replanted tooth in dogs

2016년 2월 25일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

양 준 모

성견에서 치아재식시 혈소판 풍부 혈장의 효과

지도교수 유 상 준

이 논문을 치의학 석사학위신청 논문으로 제출함.

2015년 10월

조선대학교 대학원

치 의 학 과

양 준 모

양준모의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 김 춘 성 (인)

위 원 조선대학교 교수 김 병 옥 (인)

위 원 조선대학교 교수 유 상 준 (인)

2015년 11월

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT.....	iv
I. 서 론.....	1
II. 실험재료 및 방법.....	3
III. 연구결과.....	8
IV. 총괄 및 고찰.....	14
참고문헌.....	16

표 목 차

Table 1. Histomorphometric results of periodontal wound healing at 4 weeks after replantation (mean \pm standard deviation)..... 13

Table 2. Histomorphometric results of periodontal wound healing at 8 weeks after replantation (mean \pm standard deviation)..... 14

도 목 차

Fig. 1. Schematic illustration representing the study design. 4

Fig. 2. The surgical procedure. 5

Fig. 3. Schematic illustration representing the horizontal root plane. 6

Fig. 4. Longitudinal sections of periodontal wound healing at 4 weeks after replantation. 9

Fig. 5. Horizontal sections of periodontal wound healing at 4 weeks after replantation. 10

Fig. 6. Longitudinal sections of periodontal wound healing at 8 weeks after replantation. 11

Fig. 7. Horizontal sections of periodontal wound healing at 8 weeks after replantation. 12

ABSTRACT

Effect of platelet-rich plasma on replanted tooth in dogs

Jun-Mo Yang, D.D.S.

Advisor : Prof. Sang-Joun Yu, D.D.S.

Department of Dentistry,

Graduate School of Dentistry

OBJECTIVE : The objective of this study was to evaluate the effect of platelet-rich plasma (PRP) on periodontal healing of replanted teeth surface in dogs histologically and histomorphometrically.

MATERIALS AND METHODS : Total 36 roots of mandibular incisors and premolars from six mongrel dogs were used in this study. The roots were randomly divided into three groups: (1) a positive control group (n=12), in which the periodontal ligament(PDL) and the cementum were retained and the roots were soaked in 1ml saline for 5 minutes; (2) a negative control group (n=12), in which the PDL and the cementum were removed and the roots were soaked in 1ml saline for 5 minutes; and (3) an experimental group (n=12), in which the PDL and the cementum were removed and the roots were soaked in 1ml PRP for 5 minutes. After soaking the root surfaces, the extracted roots were replanted into extraction sockets. Canals of all roots were filled with calcium hydroxide and the crowns were removed. the roots were covered using a coronally repositioned flap. The animals were sacrificed four and eight weeks after surgery for histologic and histomorphometric evaluation.

RESULTS : At four and eight weeks, the roots in positive control group almost showed normal PDL and cementum. The roots in negative control group almost showed ankylosis. The roots in experimental group almost showed PDL-like tissue and cementum like tissue. but the width of PDL-like tissue and cementum-like tissue were irregular with resorption of root surface. At four

weeks, histomorphometric analysis of cross sections showed that the mean length of the PDL-like tissue on the roots soaked with PRP was significantly greater than that of the tissue on the roots in the negative control group($P = 0.020$) and PDL on the roots in the positive control group($P = 0.020$). At eight weeks, the mean length of the PDL-like tissue on the roots soaked with PRP was significantly greater than that of the tissue on the roots in the negative control group($P = 0.021$) and greater than PDL on the roots in the positive control group($P = 0.564$). But there's no singinficance with the positive control group. At four weeks, the mean length of the cementum-like tissue on the roots soaked with PRP was significantly greater than that of the tissue on the roots in the negative control group($P = 0.034$) and PDL on the roots in the positive control group($P = 0.018$). At eight weeks, the mean length of the cementum-like tissue on the roots soaked with PRP was greater than that of the tissue on the roots in the negative control group($P = 0.271$) and PDL on the roots in the positive control group($P = 0.561$). But there's no singinficance with the negative control group and the positive control group.

CONCLUSION : These results showed that the use of PRP on tooth replantation resulted in significant increase of PDL-like tissue and cement-like tissue on replanted tooth in dogs. These suggested that PRP was beneficial role in periodontal tissue healing and the usage of PRP could be an option for replantation of periodontal involvement teeth.

1. 서론

의도적 재식술이란 치아를 의도적으로 발치 후 처치한 후, 다시 원래 발치와로 재위 치시키는 술식을 말한다¹. 의도적 재식술의 적응증으로는 근관치료의 실패, 해부학적 제한, 접근성 문제, 사고에 의한 완전 탈구 등이 있다². 하지만 치주염에 이환된 치아는 의도적 재식술을 적용할 수 없다³. 왜냐하면 치주인대가 부족하고 남아있는 치주인대의 재생능력이 부족하기 때문이다. 하지만 발치 후 임플란트나 다른 보철치료가 어려운 경우나 환자의 발치 거부 의사가 강한 경우 최후의 치료 수단으로 치주염에 이환된 치아의 의도적 재식술을 적용하기도 하며, 몇몇 연구에서 성공적인 결과를 보여주었다.

Lu는 치주염에 이환되었고 근관치료가 잘못된 하악 제 1소구치를 치아재식술을 시행하여 32개월동안 증상이 없고 기능적으로 문제가 없었음을 보고하였다⁴. Baykara와 Eratalay도 치주염에 이환된 치아의 치아재식술 후 8년 경과관찰을 보고하였다⁵. 또한 Demiralp 등은 15개의 전치를 대상으로 치아재식술 6개월 경과관찰결과 치아주변 골내병소의 크기가 감소했음을 보고하였다⁶. 하지만 이들 연구들은 case report 또는 case series 이기 때문에 좀 더 높은 수준의 증거 기반 연구가 필요하다.

치아재식 후 치주인대와 잔존치주인대의 재생능력이 부족하면 치주 부착기구 재생의 실패를 일으켜 치아유착이나 치근흡수같은 합병증을 발생시킨다. 이러한 합병증을 예방하기 위해서 치주재생 연구에 다양한 성장인자를 적용하는 연구가 시작되었습니다. 창상치유는 성장인자로 알려진 생활성 물질로 조절된다⁷. 성장인자는 세포간 신호전달 물질로서 세포증식, 혈관형성, 화학주성 그리고 분화를 촉진한다. 따라서 성장인자 적용시 치주재생을 촉진시킨다. Platelet-derived growth factor(PDGF)는 창상치유 초기 단계에 섬유성 결합조직 형성을 촉진한다^{8,9}. 또한 백악아세포의 생광물화(biomineralization)을 증가시키고 사피섬유 형성을 유도하여 백악질 형성을 촉진시킨다^{10,11}. Fibroblast growth factor-2(FGF-2)는 창상치유시 혈관형성과 섬유모세포 증식을 촉진시킬 뿐만 아니라, 치주인대 세포의 화학주성 효과와 증식효과를 보여 치주재생치료에 사용하는 연구가 있다^{12,13}. Transforming growth factor-β1(TGF-β1)은 치주인대 세포와 치주인대 전구세포의 섬유모세포성 분화를 유도하고 치주인대를 생리적 조건하에 유지하는데 중요한 역할을 한다¹⁴. Growth differentiation factor-5(GDF-5)는 치주조직을 포함한 근골격계에서 골과 인대 형성을 촉진하여, 치주창상의 치유 및 재

생에 효과적이라는 연구가 있다¹⁵.

최근, 자가혈액농축물은 치주창상에 고농도의 성장인자를 안전하고 편하게 적용할 수 있는 방법이라고 보고된 바 있다^{16,17}. 혈소판 풍부 혈장(platelet-rich plasma, PRP)도 그 중 하나로 원심분리된 혈액에서 혈소판이 농축된 혈장을 의미한다¹⁸. 혈소판에 포함되어 있는 α -granule에는 다양한 성장인자를 포함하고 있다¹⁹. α -granule 포함된 대표적인 성장인자는 platelet-derived growth factor(PDGF), insulin-like growth factor(IGF), transforming growth factor- β (TGF- β), endothelial growth factor(EGF), vascular endothelial growth factor(VEGF) 등이 있다. 이러한 성장의 효과를 이용하기 위해 상악동 거상술^{20,21}, 골내병소의 조직유도재생술²², 치근피개술²³ 그리고 임플란트 주위염²⁴ 치료에 사용되었고, 유의한 결과가 보고되었다. PRP는 치과영역 뿐만 아니라 이비인후과, 두경부 수술, 심혈관 수술 영역에서도 사용되고 있다^{25,26}. 따라서 본 연구에서도 PRP의 성장인자를 치아재식술에 적용시켜 보고자 하였습니다.

이 연구의 목적은 성견의 치아 재식술시 치근면에서 백악질과 치주인대 제거 후 PRP를 적용했을 때의 효과를 조직학적 그리고 조직계측학적으로 평가하는 것이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

잡종견 6마리(10~15kg)를 대상으로 하였다. 암, 수 구별 없이 모두 동일 조건하에서 사육되었고 건강 상태는 모두 양호하였다. 동물의 선정과 관리, 수술 프로토콜 그리고 준비과정은 조선대학교 치과대학의 실험동물실 규정을 준수하여 이루어졌고, 동물실험윤리위원회의 승인(CIACUC2015-S0008)을 받았다.

2. 실험 동물의 처리

1) 양성 대조군

치아 발치 후 양성대조군의 치근은 5분동안 공기 중에 보관한다. 그 후, 5분간 근관치료를 시행한다. 5분간 멸균된 생리식염수 1.0 ml에 보관한다. 그 후 수산화칼슘으로 근관충전 하였다.

2) 음성 대조군

치아 발치 후 음성대조군의 치근은 치관을 발치검자로 잡아서 5분동안 백악질과 치주인대를 큐렛으로 제거한다. 그 후, 5분간 근관치료를 시행한다. 5분간 생리식염수 1.0 ml에 보관한다. 그 후 수산화칼슘으로 근관충전 하였다.

3) 실험군

치아 발치 후 음성대조군의 치근은 치관을 발치검자로 잡아서 5분동안 백악질과 치주인대를 큐렛으로 제거한다. 그 후, 5분간 근관치료를 시행한다. 5분간 혈소판 풍부 피브린 1.0 ml에 보관한다(Figure 1). 그 후 수산화칼슘으로 근관충전 하였다.

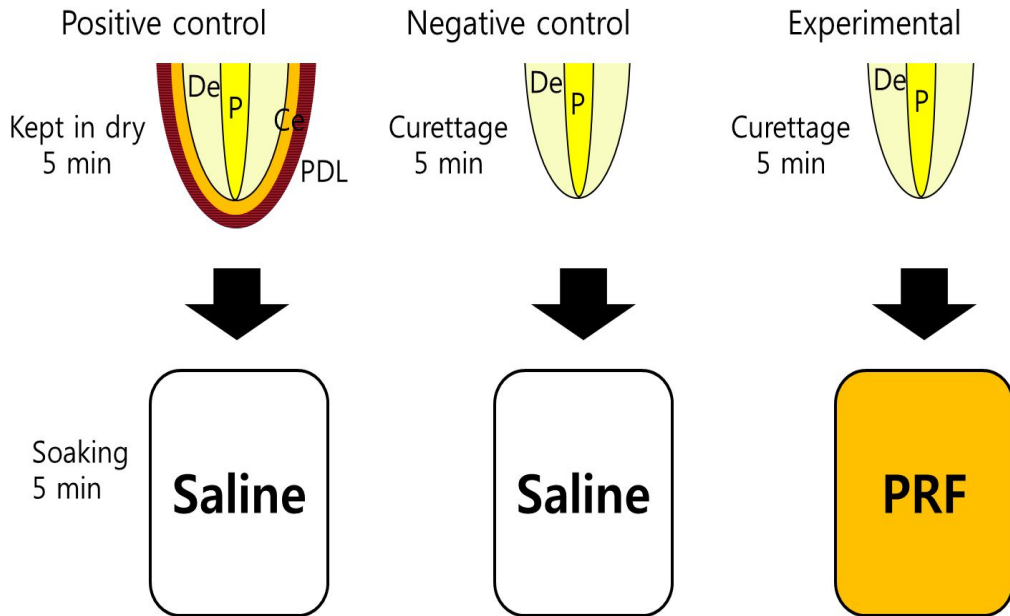


Figure 1. Schematic illustration representing the study design. PDL, periodontal ligament; Ce, cementum; De, dentin; P, pulp; min, minutes.

3. 혈소판 풍부 피브린 제조법

성견에서 10 ml 정맥혈을 채취후 플라스틱관에 담아서 첨가물 없이 원심분리 한다. 원심분리는 MF 300[®](Hanil, Incheon, South korea)로 10분간 2000 rpm으로 한다. 원심분리된 혈액은 크게 3가지 층으로 나뉘어지는데 상층의 혈소판 결핍 혈장, 중간층의 혈소판 풍부 혈장, 하층은 적혈구다. 이 중 혈소판이 풍부한 중간층에서 1.0ml 채혈하여 EP tube로 옮겨 실험군의 치근을 보관한다.

4. 외과적 처치과정

모든 외과적 처치과정은 전신마취하에서 진행되었으며, 사용한 마취전 진정제는 acepromazine maleate([Sedaject[®], Samu median, Seoul, South korea], 0.2-0.3 mg/kg, IM)이고, 마취 유도제는 tiletamine-zolazepam([Zoletil 50[®], Carros, France], 7-10 mg/kg, IM)이다. 상악 또는 하악의 중절치와 측절치, 그리고 하악 제 3 소구치

또는 제 4소구치를 발거했으며, 마리당 6개의 치근이 대상이 되었다. 소구치는 발치전 fissure bur를 이용하여 분할하였다. 각각의 치근은 발치기자로 탈구시키고, 발치경자를 사용하여 발치하였다. 발치는 가능한 비외상적으로 시행하였다. 각각의 치근은 1개의 실험군과 2개의 대조군으로 나뉘었다.

세 그룹의 모든 치근은 근관치료 및 재식 후, 치관을 삭제하였다. 협측 판막을 거상 후 치관변위시켜 모든 치근을 덮고 수직 누상 봉합과 단속봉합했다(Figure 2).

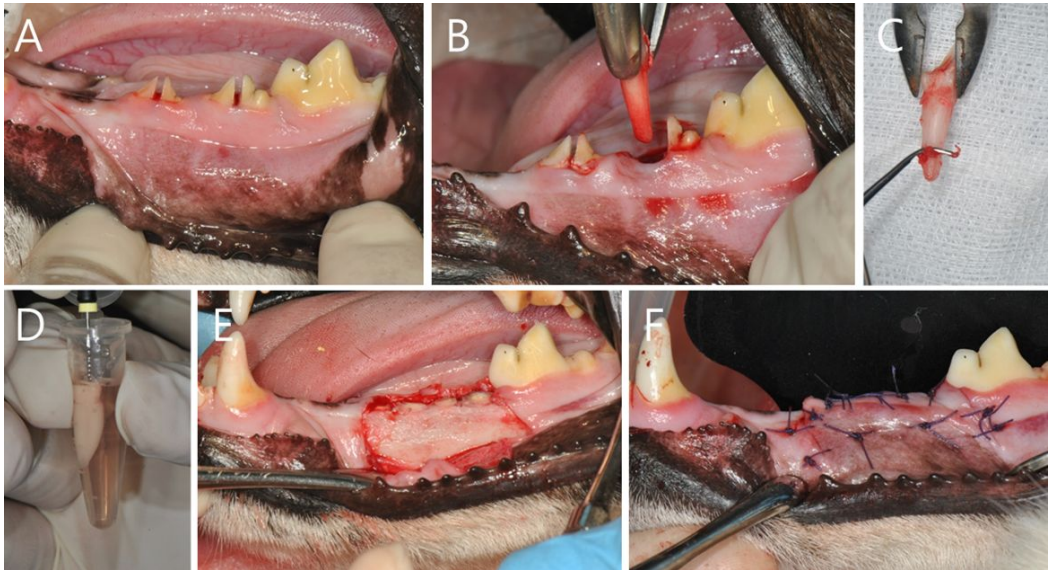


Figure 2. The surgical procedure. (A) The crowns and furcation areas of the premolars were sectioned in the middle and parallel to the long axis of the root with the use of a fissure bur.(B) The extractions were performed as atraumatically as possible. (C) All of periodontal ligament and cementum were removed by scaling and root planing in negative control and experimental groups. (D) The roots were soaked in PRP 1.0ml at experimental group. (E) After replanting the roots and canal filling with calcium hydroxide, the crowns were removed. (F) The roots were covered using a coronally repositioned flap.

외과적 처치 후 모든 성견은 광범위 항생제(Spiramycin, [Spira-S, Han Dong, Yesan, South Korea], 2-20 mg/kg, IM)를 수술 당일부터 2주간 하루 2회 적용했다. 4주와 8주후, 과량의 tiletamine-zolazepam([Zoletil 50[®], Carros, France], 10-15 mg/kg, IM)으로 희생하였다.

5. 조직학적 및 조직계측학적 평가

조직학적인 평가를 위해 채취된 골 시편은 10% 완충 포르말린으로 고정하고, 10% 포름산으로 탈회하였다. 그 후 파라핀에 포매 후 절단하였다. Hematoxylin-Eosin 염색을 시행한 후 광학현미경(LEICA DM750, Wetzlar, Hesse, Germany)으로 관찰하였다. 각각의 그룹의 6개의 치근 중 2개의 치근은 조직학적 양상을 확인하기 위해 치근의 장축에 평행한 시상면으로 절단하였다. 나머지 4개의 치근은 조직계측학적 분석을 위해 치근 장축에 수직인 횡단면으로 절단하였다. 마이크로톰으로 7 μm 두께로 절단하였다. 조직계측학적 분석을 위해 사용된 시상면 절편은 치근 중앙에 위치한 것으로 선택하였다.

모든 계측은 디지털 카메라(LEICA ICC50, Wetzlar, Hesse, Germany)가 장착된 광학현미경(LEICA DM750, Wetzlar, Hesse, Germany)을 사용하였다. 계측은 개인용 컴퓨터로 i-SOLUTION Lite® 처리 후 분석 프로그램(IMT i-Solution Corporation, Burnaby, British Columbia, Canada)을 사용하였다. 각각의 치근으로부터 4장의 횡단면 절편을 임의로 선택하였다. 계측한 항목은 다음과 같습니다.

가. Periodontal ligament/Periodontal ligament like tissue(PDL/NPDLT)

-치근면에 부착된 결합조직의 길이

나. Replacement resorption(RR)

-유착이 일어난 부분의 길이

다. Cementum/Cementum-like tissue(C/NCeT)

-치근면에 백악질 또는 재생된 백악질이거나 백악질 유사 침착부분의 길이(Figure 3)

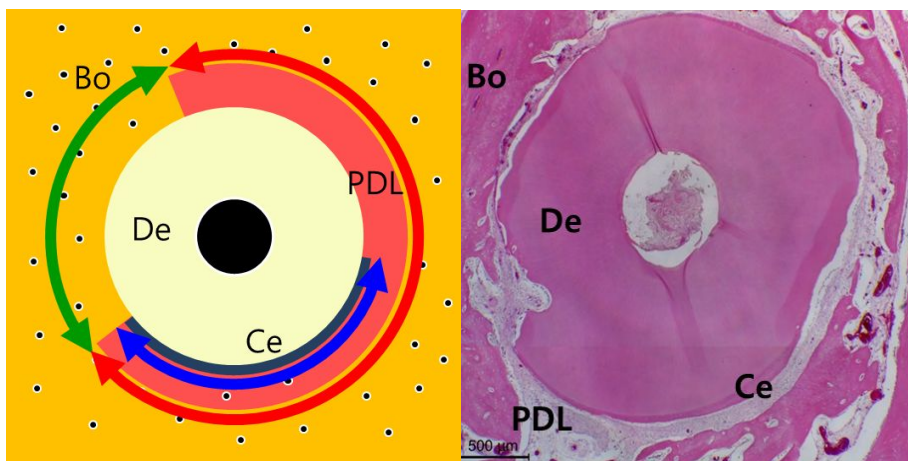


Figure 3. Schematic illustration representing the horizontal root plane for histomorphometric analysis. Bo, alveolar bone; PDL, periodontal ligament; Ce, cementum; De, dentin; Red arrow, periodontal ligament/newly formed periodontal ligament like tissue(PDL/NPDLT); green arrow, replacement resorption(RR); blue arrow, Cementum/ newly formed cementum-like tissue(C/NCeT).

PDL/NPDLT와 RR은 치근 전체 둘레길이에 대한 백분율로 표시하고, C/NCeT는 PDL/NPDLT에 대한 백분율로 표시하였다. 결과는 평균±표준편차 형태로 산출하였다.

6. 통계학적 분석

각각의 측정치의 평균과 표준편차는 각각의 그룹으로 계산되었다. 2개의 대조군과 1개의 실험군 간의 통계학적 유의성이 있는지 판단하기 위해 Kruskal-Wallis 검정, Mann-Whitney U 검정, 그리고 Bonferroni 교정이 사용되었다. P-값이 0.05 미만인 것을 통계학적 유의성이 있다고 판단하였다. 분석은 SPSS version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다.

III. 연구 결과

1. 임상적 결과

4주군의 양성대조군 치근 1개와 음성대조군 치근 1개에서 치근 상방의 치은의 염증 반응 없이 치근이 노출되었다. 8주군의 양성대조군 치근 1개와 음성대조군 치근 1개에서 치근 상방 치은의 부종과 발적을 동반한 치은염증과 함께 치근 일부가 노출되었다. 이외에 4주군, 8주군의 대조군과 실험군에서 치근 상방은 건강한 점막으로 치유되었다.

2. 조직학적 결과

1) 4주군

4주 양성대조군은 시상면 절편에서 균일한 두께의 치주인대강이 관찰되고 백악질은 치근단 방향으로 갈수록 두꺼워지고 있다. 상아질은 백악질에 둘러싸여 있고 백악질 표면에는 염증반응이 관찰되지 않는다(Fig 4. A, D). 횡단면 절편에서는 일부 치근면에서 치아유착이 관찰되었다(Fig 5. A, D). 4주 음성대조군의 경우 치근면에 치주인대 유사조직과 백악질 유사조직이 대부분 관찰되지 않고 치아유착이 관찰된다(Fig 4. B, E and Fig 5. B, E). 4주 실험군의 경우 치주인대 유사조직과 백악질 유사조직이 관찰된다. 하지만 양성대조군에 비해서 치주인대강 두께가 불규칙한 양상이고 상아질의 표면의 불규칙한 흡수와 함께 백악질 유사조직이 불규칙한 두께로 관찰된다(Fig 4. C, F and Fig 5. C, F).

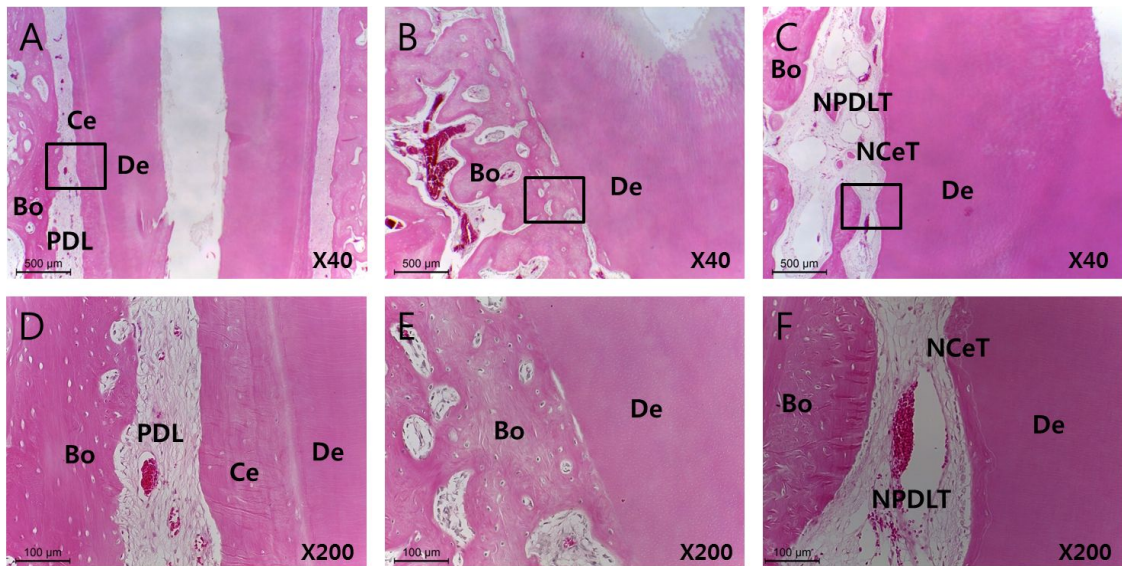


Figure 4. Longitudinal sections of periodontal wound healing at 4 weeks after replantation(A and D, positive control group; B and E, negative control group; C and F, experimental group) (A, B and C, original magnification 40x; D, E and F, original magnification 200x). A) PDL and cementum were observed around dentin. B) Alveolar bone was in direct contact with dentin. C) PDL-like tissue and cementum-like tissue were observed around dentin. But width of PDL-like tissue space and cementum-like tissue were irregular than positive control group. Bo, alveolar bone; PDL, periodontal ligament; Ce, cementum; De, dentin; NPDLT, newly formed periodontal ligament tissue; NCeT, newly formed cementum tissue.

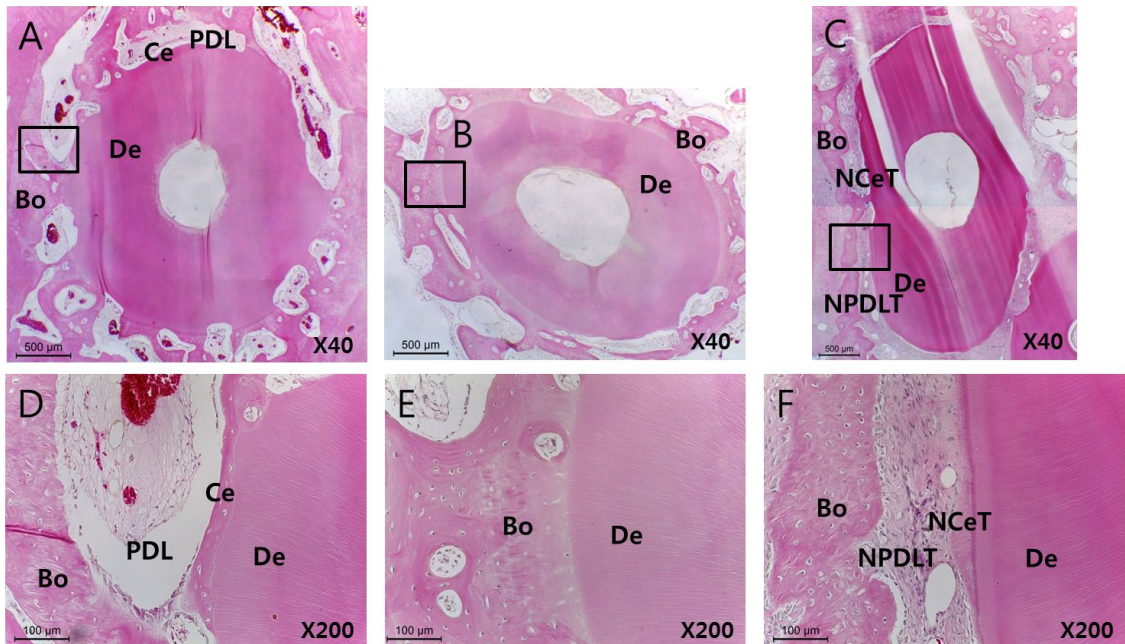


Figure 5. Horizontal sections of periodontal wound healing at 4 weeks after replatation(A and D, positive control group; B and E, negative control group; C and F, experimental group) (A, B and C, original magnification 40x; D, E and F, original magnification 200x). A, D) PDL and cementum were observed almost around dentin. But ankylosis and surface resorption were occasionally shown around dentin B, E) Alveolar bone was in direct contact with dentin. C, F) The width of PDL-like tissue space was regular than positive control group. and PDL-like tissue was more dense than that. But cementum-like tissue was observed around dentin. But Bo, alveolar bone; PDL, periodontal ligament; Ce, cementum; De, dentin; NPDLT, newly formed periodontal ligament tissue; NCeT, newly formed cementum tissue.

2) 8주군

8주 양성대조군은 4주 양성대조군과 마찬가지로 균일한 두께의 치주인대강이 관찰되고 백악질은 치근단 방향으로 두꺼워지고 있다. 백악질이 상아질을 둘러싸고 있으며, 백악질과 상아질 표면에 염증반응은 관찰되지 않는다(Fig 6. A, D and Fig 7. A, D). 8주 음성대조군은 대부분에서 치근 흡수와 함께 치아유착이 관찰되었다. 또한 치근표면에 염증반응과 함께 깊고 넓은 형태의 상아질 흡수가 관찰되었다(Fig 6. B, E and Fig 7. B, E). 8주 실험군은 치주인대 유사조직과 백악질 유사조직이 관찰되었고 치근표면에 상아질 흡수 없이 균일한 두께의 백악질 유사조직이 관찰되었다(Fig 4. C, F and Fig 5. C, F).

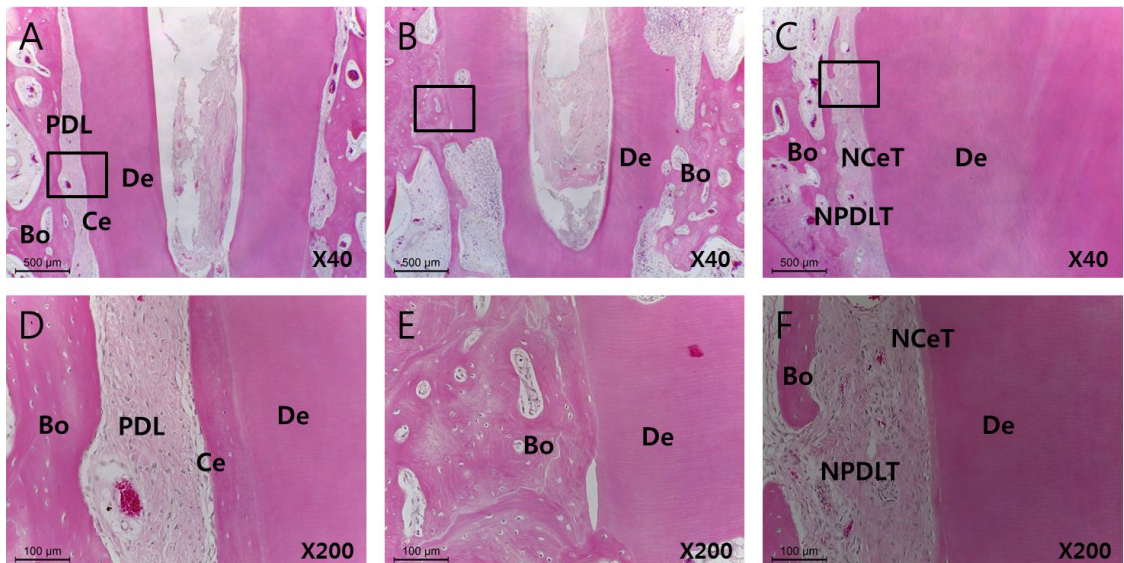


Figure 6. Longitudinal sections of periodontal wound healing at 8 weeks after replatation(A and D, positive control group; B and E, negative control group; C and F, experimental group) (A, B and C, original magnification 40x; D, E and F, original magnification 200x). A, D) PDL and cementum were observed around dentin. B, E) Alveolar bone was in direct contact with dentin. Wide and deep inflammatory resorption was shown on dentin surface. C, F) PDL-like tissue and cementum-like tissue were observed around dentin. The cementum like tissue was thin than cementum of postive control group. But, the thickness of cementum-like tissue was uniform like postivie control group. Bo, alveolar bone; PDL, periodontal ligament; Ce, cementum; De, dentin; NPDLT, newly formed periodontal ligament tissue; NCeT, newly formed periodontal ligament tissue.

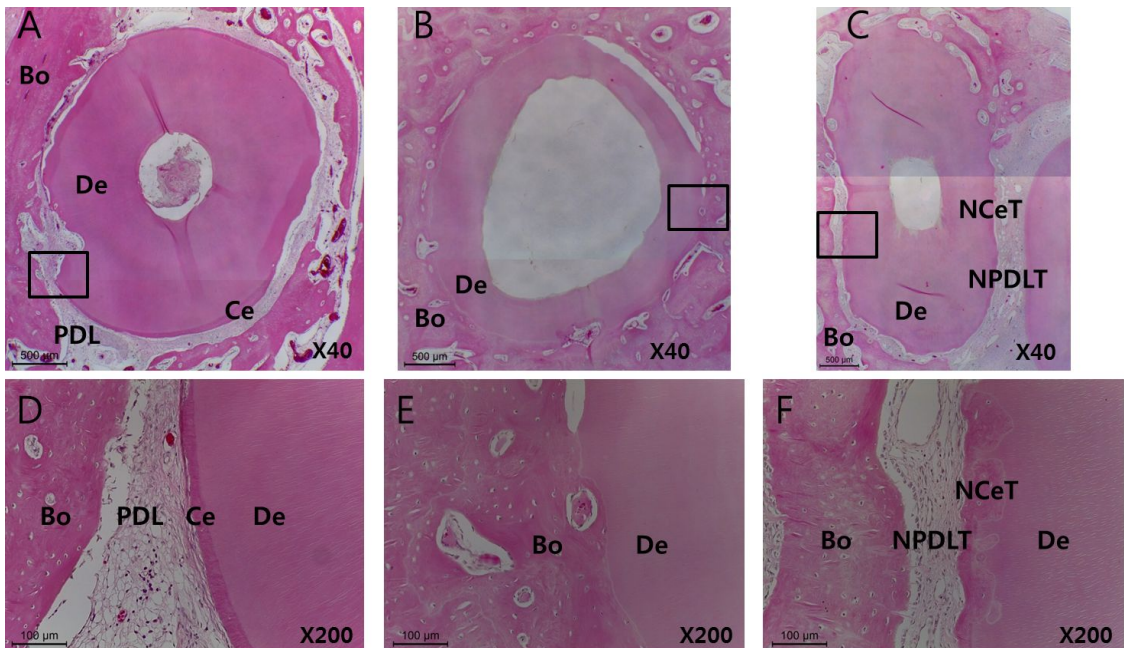


Figure 7. Horizontal sections of periodontal wound healing at 8 weeks after replatation(A and D, positive control group; B and E, negative control group; C and F, experimental group) (A, B and C, original magnification 40x; D, E and F, original magnification 200x). A) PDL and cementum were observed around dentin. B) Alveolar bone was in direct contact with dentin. C) PDL-like tissue and cementum-like tissue were observed around dentin. Cementum-like tissue were formed in area of surface resorption. Bo, alveolar bone; PDL, periodontal ligament; Ce, cementum; De, dentin; NPDLT, newly formed periodontal ligament tissue; NCeT, newly formed cementum tissue.

3. 조직계측학적 결과

4주 실험군은 양성 대조군($P = 0.020$)과 음성대조군($P = 0.020$)에 비해 치아유착비율이 유의적으로 낮은 값을 보였다. 또한 백악질 유사조직 생성비율도 양성 대조군($P = 0.018$)과 음성 대조군($P = 0.034$)에 비해서 유의적으로 높은 값을 보였다 (Table 1).

8주 실험군은 음성 대조군($P = 0.021$)에 비해서 치아유착비율이 유의적으로 낮은 값을 보였다. 양성대조군과 비교($P = 0.564$)시 치아유착 비율이 낮게 나타났지만, 통계적 유의성은 관찰되지 않았다. 백악질 유사조직의 생성비율은 양성대조군($P = 0.561$)과 음성대조군($P = 0.271$)에 비해서 높은 값을 나타냈지만 통계적 유의성은 보이지 않았다 (Table 1, 2).

Table 1. Histomorphometric results of periodontal wound healing at 4 weeks after replantation (mean \pm standard deviation).

Groups	PDL/ PDL like tissue(%)	Ankylosis(%)	Cementum/ cementum like tissue(%)
Pos.	38.17 \pm 6.89	61.83 \pm 16.89	1.81 \pm 3.62
Neg.	21.66 \pm 19.55	78.34 \pm 19.55	23.11 \pm 20.07
PRP	92.12 \pm 10.49	7.88 \pm 10.49	51.56 \pm 11.15
P-value(Pos. vs. Neg. vs. PRP)	0.015 ^{a)}	0.015 ^{a)}	0.018 ^{a)}
P-value(Pos. vs. PRP)	0.020 ^{b)}	0.020 ^{b)}	0.018 ^{b)}
P-value(Neg. vs. PRP)	0.020 ^{b)}	0.020 ^{b)}	0.034 ^{b)}
P-value(Pos. vs. Neg.)	0.149	0.149	0.172

Pos, positive control roots; Neg, negative control roots; PRP, experimental roots PDL, periodontal ligament tissue (in the positive group); NPDLT, newly formed periodontal ligament-like tissue (in the negative group and experimental group); RR, replacement resorption (ankylosis); NCeT, newly formed cementum tissue.

^{a)} Statistically significant difference (P<0.05) (Kruskall-Wallis test)

^{b)} Statistically significant difference (P<0.05) (Mann-Whitney U test)

^{c)} Statistically significant difference (P<0.017) (Bonferroni correction)

Table 2. Histomorphometric results of periodontal wound healing at 8 weeks after replantation (mean \pm deviation).

Groups	PDL/ PDL like tissue(%)	Ankylosis(%)	Cementum/ cementum like tissue(%)
Pos.	75.71 \pm 23.92	24.29 \pm 23.92	79.10 \pm 19.40
Neg.	24.27 \pm 22.42	75.73 \pm 22.42	56.33 \pm 42.39
PRP	86.02 \pm 14.38	13.98 \pm 14.38	92.51 \pm 8.65
P-value(Pos. vs. Neg. vs. PRP)	0.035 ^{a)}	0.035 ^{a)}	0.578
P-value(Pos. vs. PRP)	0.564	0.564	0.561
P-value(Neg. vs. PRP)	0.021 ^{b)}	0.021 ^{b)}	0.271
P-value(Pos. vs. Neg.)	0.043 ^{b)}	0.043 ^{b)}	0.724

Pos, positive control roots; Neg, negative control roots; PRP, experimental roots PDL, periodontal ligament tissue (in the positive group); NPDLT, newly formed periodontal ligament-like tissue (in the negative group and experimental group); RR, replacement resorption (ankylosis); NCeT, newly formed cementum tissue.

^{a)} Statistically significant difference (P<0.05) (Kruskall-Wallis test)

^{b)} Statistically significant difference (P<0.05) (Mann-Whitney U test)

^{c)} Statistically significant difference (P<0.017) (Bonferroni correction)

IV. 총괄 및 고찰

치주재생은 치조골, 치주인대 그리고 백악질을 재생시켜 치근표면에 신부착을 만드는 것을 의미하며, 이는 치주치료의 이상적인 목표이다²⁷. 이를 달성하기 위해 지금까지 여러 가지 치료법이 고안되었지만 효과는 제한적이거나 예지성이 떨어졌다. 재생해야 할 조직이 3가지이기 때문에 재생과정은 그만큼 복잡하며 다양한 성장인자가 필요하다. 이런 이유로 치주재생을 촉진시키기 위해 2가지 또는 그 이상의 생활성 물질을 적용하는 연구가 이루어졌다^{28,29}. 또한, 자가 혈액 농축물에 포함되어 있는 다양한 성장인자는 치주재생에 도움이 될 수 있다.

혈소판 풍부 혈장도 그 중 하나로 혈액에 항응고제를 첨가하여 원심분리 후 중간층의 혈소판 풍부 혈장에 트롬빈을 적용하여 응고를 촉진하여 사용한다. 트롬빈은 수용성의 피브리노겐을 불용성의 피브린으로 변환시켜 피브린 네트워크를 형성하는 물질로서 응고를 촉진합니다. Chan 등에 따르면 트롬빈은 치주인대의 섬유모세포의 세포성장, 세포집단화 기능을 활성화시켜 이를 통해 치아유착을 방지하고 치주재생을 도모할 수 있다고 하였습니다³⁰. Assuncao 등의 성견의 재식실험에서 혈소판 결핍 혈장 적용군, 혈소판 풍부 혈장과 칼슘 적용군, 혈소판 풍부 혈장, 칼슘, 트롬빈 적용군, 혈소판 풍부 혈장, 칼슘, 그리고 골수 줄기세포 적용군, 그리고 대조군의 치주재생 비교시 트롬빈을 적용했던 그룹에서만 유일하게 치아 유착을 보이지 않았다³¹.

하지만 트롬빈은 자가 혈액 농축물에 포함된 양이 작기 때문에 대부분 소에서 추출한 것을 상품화하여 이용하고 있다. 또한 기존의 PRP는 항응고제와 트롬빈을 적용하는 과정이 필요했다. 따라서 본연구에서는 PRP의 제조과정을 단순화하고 이물반응을 없애기 위해 혈액에 별도의 첨가물 없이 오로지 원심분리만 하여 PRP를 제조하였고, 음성대조군에 비해, PRP를 적용한 실험군에서 유의적으로 치아 유착비율이 낮았으며, 양성대조군과 비교했을 때도 4주 실험군은 유의적으로 치아 유착비율이 낮았으며, 8주 실험군은 통계학적 유의성은 없었지만, 치아 유착비율이 낮았다.

최근, 줄기세포를 이용한 치주재생 연구가 많이 이루어지고 있다. 하지만 Assuncao의 연구에서 트롬빈 대신 골수 줄기세포를 적용한 군에서 유의적으로 높은 치아유착비율을 보였다³¹. 이처럼 줄기세포를 ex-vivo에서 배양하여 적용하는 과정이 복잡하고 환자가 부담해야 하는 비용도 큼에도 불구하고 그 결과가 기대만큼 좋지는 않다. 이 연구결과를 보면 골수 줄기 세포를 사용하지 않고 PRP만을 사용했음에도 불구하고 치

주재생을 증진시킬 수 있음을 알 수 있다.

Za0 등에 따르면 치주인대 줄기세포와 PRF를 같이 적용한 군(PDLSC/PRF)과 PRF 단독 적용한 군이 대조군에 비해서 유의적으로 낮은 치아 유착 비율을 보였습니다³². 두 실험군간 비교에선 PDLSC/PRF군이 PRF군 보다 좀 더 낮은 치아 유착 비율을 보였지만 실험군간 유의성은 보이지 않았다. 치주인대 줄기세포는 제 3대구치와 교정치료 목적을 발치하는 경우를 제외하고는 채득하기 어렵다. 또한, 채득한 치주인대 줄기세포를 재식할 치아 적용하는 과정 중에 나타나는 오류에 의해 치료결과에 오차가 발생할 가능성도 있다.

이상 Assuncao와 Zao의 자가 혈액 농축물을 이용한 치아재식술 연구에서는 백악질과 치주인대를 제거하지 않은 실험 설계로 유의적으로 낮은 치아 유착 비율을 보였다^{31,32}. 이 연구에서는 다른 실험 설계로 백악질과 치주인대를 제거 한 후 PRP 적용하였을 때 대조군에 비해 낮은 ankylosis 비율을 보였다.

또한, Assuncao와 Zao 연구에선 자가 혈액 농축물을 발치와에 직접 적용한 반면, 이 연구에서는 PRP에 발치한 치아를 5분간 보관 후 발치와에 적용하였다. 치주인대와 백악질을 제거한 치근면에 PRP를 얼마 동안 적용하는 것이 효과적인지에 대한 추가 연구가 필요하다.

본 연구는 치주인대와 백악질을 제거한 치근면에 자가 혈액 농축물을 적용한 최초의 연구이며, 이를 통해 치주질환에 이환된 치아에 치주재생을 적용할 수 있는 가능성을 보여준 연구다. 이전 연구들에서 치주재생에서 중요한 역할을 하는 것은 치근표면에 살아있는 세포들이라고 하였다³³⁻³⁵. 하지만, 이 연구에서는 실험군이 음성대조군에 비해서 치아유착이 유의적으로 낮은 비율을 보여, 치근표면에 살아있는 세포가 없이 PRP만으로 인접 발치와 표면에 존재하는 치주인대 세포만으로도 치주재생을 증진시킬 수 있음을 보여준다.

본 연구에서 4주 양성 대조군의 치아 유착 비율은 $61.83 \pm 16.89\%$ 이고, 4주 음성 대조군의 치아 유착 비율은 $78.34 \pm 19.55\%$ 를 보였으며, 두 대조군간 차이는 유의성을 보이지 않았다. 이는 치주염에 이환되지 않은 치근표면에서도 염증반응이 일어날 수 있으며 이로 인하여 치아재식술의 실패를 초래할 수 있음을 보여준다. 반면 4주 실험군은 치아 유착 비율이 $7.88 \pm 10.49\%$ 로 4주 양성 대조군에 비해 유의적으로 낮은 결과를 보였으며, 8주 실험군도 $13.98 \pm 14.38\%$ 로 8주 양성 대조군의 $24.29 \pm 23.92\%$ 에 비해 유의성은 없었지만 낮은 결과를 보였다. 이를 통해 PRP가 정상 치주인대와 백악질의 재생을 증진시킬 수 있음을 보여준다. 다만, 조직계측학적 분석을 위한 모집단 수

가 작기 때문에 좀 더 많은 수의 모집단을 대상으로 한 후속 연구가 필요하다.

치아 재식술시 치근침이 달린 경우, 염증성 치근흡수를 방지하기 위해 근관치료가 필요하다³⁶. Panzarini에 등에 따르면 치아재식술시 치근침이 달린 경우 근관치료를 시작하는 이상적인 시기는 재식 후, 7-10일 이라고 보고하였다³⁷. 이 연구에서는 치관을 삭제하고 치근을 치은하방에 위치시키기 때문에 재식과 근관치료를 동시에 시행하였다.

Nakagima 등에 따르면 성견에서 발치 3일 후, 발치와에서 채득한 육아조직, beta-tricalcium phosphate 그리고 polyglycolic acid를 1벽성 골결손부에 적용한 결과 백악질 유사조직과 상아질 유사조직이 관찰되었다. beta-tricalcium phosphate 와 polyglycolic acid만 적용한 대조군에서는 오직 골조직만 관찰되었다. 이는 발치와로 이주한 간엽세포와 잔존 치주인대에서 유래한 간엽세포의 효과 때문이라고 보고하였다³⁸. 이 연구에서도 발치와를 소파하지 않았기 때문에 발치와에 남아있는 잔존 치주인대가 치주재생에 영향을 주었다고 볼 수 있다. 치주염에 이환된 치아의 조건과 유사한 환경을 만들기 위해선 발치와도 소파하거나 또는 의도적으로 골결손부를 형성하는 것이 필요하다.

결론적으로, 이 연구에서는 성견에서 치아 재식시 치근면에 혈소판 풍부 피브린을 적용할 경우 치아유착을 감소시키고 치주인대 유사조직과 백악질 유사조직 형성을 증가시킬 수 있음을 보여준다. 이는 PRP가 치주조직 치유에 도움이 되는 역할을 하며, PRP 사용이 치주염에 이환된 치아의 재식술에 치료법이 될 수 있음을 보여준다.

참고문헌

1. Grossman L. Intentional replantation of teeth. JADA 1982;104:633-39.
2. Madison S. Intentional replantation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1986;62:707-9.
3. Weine FS. The case against intentional replantation. J Am Dent Assoc 1980;100:664-8.
4. Lu DP. Intentional replantation of periodontally involved and endodontically mistreated tooth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1986;61:508-13.
5. Baykara M, Eratalay K. Replantation in cases with advanced periodontal destruction. J Hacettepe Faculty Dentistry 1995;19:124-28.
6. Demiralp B, Nohutcu RM, Tepe DI, Eratalay K. Intentional replantation of periodontally involved hopeless teeth. Dent Traumatol 2003;19:45-51.
7. Fre'chette JP, Martineau I, Gagnon G. Platelet-rich plasmas: Growth factor content and roles in wound healing. J Dent Res 2005;84:434-439.
8. Park JB, Matsuura M, Han KY, Norderyd O, Lin WL, Genco RJ, et al. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. J Periodontol 1995;66:462-77.
9. Cho Mi, Lin WL, Genco RJ. Platelet-derived growth factor-modulated guided tissue regenerative therapy. J Periodontol 1995;66:522-30.
10. Jin Q, Anusaksathien O, Webb SA, Printz MA, Giannobile WV. Engineering of tooth-supporting structures by delivery of PDGF gene therapy vectors. Mol Ther

2004;9:519-26.

11. Saygin NE, Tokiyasu Y, Giannobile WV, Somerman MJ. Growth factors regulate expression of mineral associated genes in cementoblasts. *J Periodontol* 2000;71:1591-600.

12. Takayama S, Murakami S, Miki Y, Ikezawa K, Tasaka S, Terashima A, et al. Effects of basic fibroblast growth factor on human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res* 1997;32:667-75.

13. Terranova VP, Odziemiec C, Tweden KS, Spadone DP. Repopulation of dentin surfaces by periodontal ligament cells and endothelial cells. Effect of basic fibroblast growth factor. *J Periodontol* 1989;60:293-301.

14. Fujii S, Maeda H, Tomokiyo A, Monnouchi S, Hori K, Wada N, et al. Effects of TGF- β 1 on the proliferation and differentiation of human periodontal ligament cells and a human periodontal ligament stem/progenitor cell line. *Cell Tissue Res* 2010;342:233-42.

15. Moore YR, Dickinson DP, Wikesjö UM. Growth/differentiation factor-5: a candidate therapeutic agent for periodontal regeneration? A review of pre-clinical data. *J Clin Periodontol* 2010;37:288-98.

16. Caceres M, Hidalgo R, Sanz A, Martinez J, Riera P, Smith CP. Effect of platelet rich plasma on cell adhesion, cell migration, and myofibroblastic differentiation in human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 2008;79:714-20.

17. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff RN. Platelet rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:638-46.

18. Tözüm TF, Demiralp B. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. *J Can Dent Assoc* 2003;69:664a-64h.

19. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):e45-50.

20. Shanaman R, Filstein MR, Danesh-Meyer MJ. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2001;21:345-55.

21. Wiltfang J, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Zimmermann R, Kessler P. Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote is osseous integration and degradation? *Clin Oral Implants Res* 2003;14:213-18.

22. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontal Res* 2002;37:300-6.

23. Srinivas BV, Rupa N, Halini Kumari KV, Prasad SS, Varalakshmi U, Sudhakar K. Root coverage using subepithelial connective tissue graft with platelet-rich plasma in the treatment of gingival recession: A clinical study. *J Pharm Bioallied Sci* 2015;7(Suppl 2):S530-8.

24. Petrungaro PS. Treatment of the infected implant site using platelet-rich plasma. *Compend Contin Educ Dent* 2002;23:363-76.

25. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2001;107:229-37.

26. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg*

Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85:638-46.

27. Polimeni G, Xiropaidis AV, Wikesjö UM. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontol 2000* 2006;41:30-47.

28. Park SY, Kim KH, Shin SY, Koo KT, Lee YM, Seol YJ. Dual delivery of rhPDGF-BB and bone marrow mesenchymal stromal cells expressing the BMP2 gene enhance bone formation in a critical-sized defect model. *Tissue Eng Part A* 2013;19:2495-505.

29. Chen FM, Chen R, Wang XJ, Sun HH, Wu ZF. In vitro cellular responses to scaffolds containing two microencapsulated growth factors. *Biomaterials* 2009;30:5215-24.

30. Chan CP, Lin CP, Chang MC, et al. Effects of thrombin on the growth, protein synthesis, attachment, clustering and alkaline phosphatase activity of cultured human periodontal ligament fibroblasts. *Proc Natl Sci Counc Repub China B*. 1998;22:137-143.


31. Assunçã L, Colenci R, Ferreira do-Amaral C, Sonoda C, Bomfim S, Okamoto R, Golim M, Deffune E, Percinoto C and Oliveira S. Periodontal tissue engineering after tooth replantation. *J Periodontol* 2011;82:758-766.

32. Zhao YH, Zhang M, Liu NX, Lv X, Zhang J, Chen FM, Chen YJ. The combined use of cell sheet fragments of periodontal ligament stem cells and platelet-rich fibrin granules for avulsed tooth reimplantation. *Biomaterials* 2013;34(22):5506-5520.

33. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 4. Factors related to periodontal ligament healing. *Endod Dent Traumatol* 1995;11(2):76-89.

34. Andreasen JO. Effect of extra-alveolar period and storage media upon periodontal and pulpal healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Int J Oral Surg* 1981;10(1):43-53.
35. Andersson L, Jonsson BG, Hammarstrom L, Blomlof L, Andreasen JO, Lindskog S. Evaluation of statistics and desirable experimental design of a histomorphometrical method for studies of root resorption. *Endod Dent Traumatol* 1987;3(6):288-95.
36. Andreasen JO. Relationship between surface and inflammatory resorption and changes in the pulp after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod* 1981;7:294-301.
37. Panzarini SR, Trevisan CL, Brandini DA, Poi WR, Sonoda CK, Luvizuto ER, Dos Santos CL. Intracanal dressing and root canal filling materials in tooth replantation: a literature review. *Dent Traumatol* 2012;28:42-8.
38. Nakajima R, Ono M, Hara ES, Oida Y, Shinkawa S, Pham HT, Akiyama K, Sonoyama W, Maekawa K, Kuboki T. Mesenchymal stem/progenitor cell isolation from tooth extraction sockets. *J Dent Res* 2014;93:1133-40.

양준모의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 김 춘 성 

위 원 조선대학교 교수 김 병 옥  (인)

위 원 조선대학교 교수 유 상 준  (인)

2015년 11월

조선대학교 대학원