



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

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

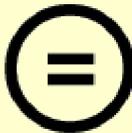
다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



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](#)

2022년 02월
박사학위논문

가토 두개골결손부에 이식된
3차원적으로 프린팅된
폴리카프로락톤 스캐폴드의
골형성 효과

조선대학교 대학원

치의학과

백재하

가토 두개골결손부에 이식된
3차원적으로 프린팅된
폴리카프로락톤 스캐폴드의
골형성 효과

Effect of 3D printed polycaprolactone composite
scaffold for bone regeneration in rabbit calvarial
defect

2022년 2월 25일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

백 재 하

가토 두개골결손부에 이식된
3차원적으로 프린팅된
폴리카프로락톤 스캐폴드의
골형성 효과

지도교수 유 상 준

이 논문을 치의학 박사학위신청 논문으로 제출함

2021년 10월

조 선 대 학 교 대 학 원

치 의 학 과

백 재 하

백재하의 박사학위논문을 인준함

위원장 전남대학교 교수 김 영 준 (인)

위 원 조선대학교 교수 김 병 옥 (인)

위 원 조선대학교 교수 김 병 훈 (인)

위 원 조선대학교 교수 유 상 준 (인)

위 원 조선대학교 교수 이 원 표 (인)

2022년 1월

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT

I. 서 론	1
II. 실험 재료 및 방법	3
1. 재료	3
2. Scaffold 제작	3
3. 동물	5
4. 실험 설계	5
5. 실험 절차	6
6. 방사선학적 평가	7
7. 조직학적 평가	8
8. 통계 분석	8
III. 연구 결과	9
IV. 총괄 및 고찰	23
V. 결론	28
참고문헌	29

도 목 차

Figure 1. FE-SEM images and photograph of PCL/ β -TCP 3D scaffold	4
Figure 2. FE-SEM images and photograph of SB(synthetic bone) scaffold ...	4
Figure 3. FE-SEM images and photograph of DBBM(Deproteinized bovine bone mineral) scaffold	4
Figure 4. Schematic diagram of experimental group	6
Figure 5. Surgical procedure	7
Figure 6. Micro-CT images of new bone formation of the experimental groups in 2 weeks	10
Figure 7. Micro-CT images of new bone formation of the experimental groups in 6 weeks	12
Figure 8. Histologic observation in 2 weeks experimental groups using H&E staining	15
Figure 9. Histologic observation in 2 weeks experimental groups using MT staining	17
Figure 10. Histologic observation in 6 weeks experimental groups using H&E staining	19
Figure 11. Histologic observation in 6 weeks experimental groups using MT staining	21

표 목 차

Table 1. Experimental groups	5
Table 2. Micro-CT analysis of the experimental groups in 2 weeks	11
Table 3. Micro-CT analysis of the experimental groups in 6 weeks	13

ABSTRACT

Effect of 3D printed polycaprolactone composite scaffold for bone regeneration in rabbit calvarial defect

Baek Jae-Ha

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

Department of Dentistry

Graduate School of Chosun University

I. Introduction

Infection, cystic lesion, and alveolar defects due to trauma, a large amount of alveolar bone resorption after tooth loss or implant removal often make implant placement difficult because of the limited amount of alveolar bone. In order to solve this problem, guided bone regeneration(GBR) with particulate graft material and resorbable collagen membrane is the most widely used. However, particulate bone graft materials have clinically limitations in maintaining space and stability. The addition of collagen to particulate bone graft can achieve GBR by ensuring graft stability and space maintenance by molding the graft material to adapt to the defect. In addition, studies to replace bone graft materials with biocompatible three dimensional scaffolds are being actively conducted. The purpose of this study was to compare the new bone formation effect of the PCL/ β -TCP scaffold with the collagenated xenograft and synthetic bone scaffolds through radiographical and histological analysis.

II. Materials and Methods

Four circular bone defects with a diameter of 8mm were formed on each of the calvaria of rabbits. Each defect in the calvarium was allocated to 1) control group,

2) Test I, alloplastic bone scaffold made in block form using collagen fiber and synthetic bone composed of hydroxyapatite (HA) and beta-Tricalcium phosphate(β -TCP), 3) TestII, Xenogeneic bone scaffold made in block form using deproteinized bovine bone mineral (DBBM) and collagen fiber, or 4) TestIII, 3D scaffold made by mixing poly ϵ -caprolactone (PCL) with β -tricalcium phosphate (β -TCP). A total of 8 rabbits were sacrificed at either 2 or 6 weeks post-surgery.

III. Results

As a result of radiological and histological evaluation, it was observed that the largest amount of new bone was formed in the collagenated synthetic bone graft in 2 weeks and 6 weeks groups. Also, unlike the control group, where new bone formation was limited to the boundary of the bone defect, new bone formation was observed from the boundary to the center in collagenated synthetic bone graft. The PCL-TCP scaffold group showed the least amount of new bone formation compared to the control group. But, there was no statistically significant difference compared to the control group.

IV. Conclusion

Based on these research results, the amount of new bone formation of the PCL/ β -TCP 3D scaffold made of 200 μ m diameter filaments was lower than that of the SB scaffold (OsteonIII® collagen) and DBBM scaffold (Bio-Oss® Collagen). However, as a result of the PCL/ β -TCP scaffold after 6 weeks, new bone was formed at the edge without an inflammatory reaction, and in some cases, new bone growing above the scaffold was observed. Also, it was observed that the 3D scaffold did not be absorbed for 6 weeks and maintained the bone defect space. Based on this, it is expected that PCL/ β -TCP 3D scaffold can be used as an alternative to the existing bone graft material. Future studies are needed to find the ideal material ratio, scaffold structure and conditions for new bone formation through the ratio of PCL and β -TCP, and changes in scaffold structure and surface treatment.

I. 서 론

발치 혹은 임플란트 제거 후에 많은 양의 치조골 흡수, 감염, 낭성 병소 및 외상 등으로 인한 치조제 결손 때문에 임플란트 식립을 위한 충분한 치조골 양의 확보가 제한될 수 있다. 이를 해결하기 위해 입자형 골이식재와 차폐막을 이용한 골유도재생술이 가장 널리 이용되고 있는 방법이다. 성공적인 골유도 재생술을 위한 생물학적 요건에는 공간유지와 안정화, 혈액공급, 조골세포, 혈병 유지, 창상의 안정화가 중요하다고 알려져 있다. 공간 유지 및 안정화는 원하지 않는 상피세포와 결계조직 세포를 차단하고 cytokine, 성장인자, 신호매개 인자 등을 많이 포함하고 있는 혈병을 안정하게 유지하고, 이를 통해 재혈관화, 골형성 세포의 분화 및 확산에 도움을 주어 예지성 있는 골형성을 이루는데 도움을 준다[1]. 현재 널리 이용되고 있는 동종골, 이종골, 합성골의 입자형 골이식재는 공간유지 및 안정화에 대한 한계가 존재한다. 이를 극복하기 위하여 3차원적인 형태를 가지고 있는 생체적합성 3차원 스캐폴드(3 dimensional scaffold, 3D scaffold)를 이용하여 골이식재를 대체하려는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 최근에는 입자형 골이식재와 함께 collagen fiber를 사용하여 3D scaffold 형태의 골이식재가 제작되었다. 대표적인 것이 Deproteinized bovine bone mineral (DBBM)과 collagen fiber를 이용하여 block 형태로 제작한 이종골 스캐폴드가 있고[2,3], hydroxyapatite(HA) 와 beta-Tricalcium phosphate(β -TCP)로 구성된 합성골을 collagen fiber와 함께 합성하여 block 형태로 제작한 합성골 스캐폴드가 있다[4,5]. 그 외에도 다양한 형태의 스캐폴드가 골재생을 위해 제작되고 사용되어 오고 있다.

골 이식재 대체물인 scaffold를 제작할 때 보통 금속(metal), 금속 합금(metal alloy), 중합체(polymer) 세 가지를 사용한다. 금속의 경우 scaffold와 뼈 사이에 섬유층이 생기게 되어 골과의 결합력이 떨어지게 된다. 금속 합금의 경우에는 이런 문제점을 해결하기 위해 hydroxyapatite(HA), calcium metaphosphate and bioactive glass 등을 표면 처리한다. 위 두가지 재료와 다르게 중합체는 물리 화학적 및 기계적 특성이 뼈와 유사한 소재를 사용하며, 높은 골전도성, 골유도성, 생분해성 특징을 가지고 있어 scaffold 재료로 많이 사용되고 있다. 중합체의 종류에는 poly lactic acid(PLA), polyglycolic acid (PGA), poly-L-lactide (PLLA), poly ϵ -caprolactone (PCL), poly lactic-glycolic acid (PLGA), poly hydroxy-alkanoates (PHA)가 존재한다. 이 중 PCL은 용융 온도가 59~64°C여서 생리학적 온도에서 반결정질 PCL은 고무 상태가 되어

높은 인성과 우수한 기계적 특성을 나타낸다. 조직 친화성이 높고 생리적인 상태에서 가수분해 될 때 독성이 없으며 5개의 소수성 $-CH_2$ 부분이 있기 때문에 PCL은 모든 폴리에스터 중에서 가장 느리게 분해된다. 이를 통해 이식부위에 이식된 뒤에도 세포의 반응, 혈관의 형성, 골 형성 과정이 일어나는 동안 공간을 안정하게 유지할 수 있다. 위와 같은 이유로 PCL은 최근 뼈 조직 공학을 포함한 생물 의학 응용 분야에서 많은 주목을 받고 있다[6-9].

중합체를 사용하여 scaffold를 제작하는 방법으로는 porogen leaching, freeze drying, 3D printing, electrospinning(ES), gas foaming 등이 있다. 최근 열용융적층모델링(Fused Deposition Modeling) 방법을 이용하여 3D printing한 scaffold 제작 연구가 활발히 이루어지고 있다. 열용융적층모델링(Fused Deposition Modeling)은 rapid prototyping(RP) 기술을 사용하여 완전히 상호 연결된 기공 네트워크를 통해 재현성이 높고 생체 흡수성인 3D scaffold를 만들 수 있다. Lay down pattern으로 적층해서 만들기 때문에 기공의 크기, 형태를 쉽게 조절할 수 있으며 다공성의 구조를 만들어 벌집모양의 형태로 만들 수 있다. DW Hutmacher 등은 PCL을 사용하여 FDM 방식으로 제작한 3D scaffold에서 섬유아세포와 조골세포 유사세포가 3D matrix 내에서 증식, 분화 및 세포조직을 생성한다고 보고하였다[10-13]. 하지만, 지금까지 기존에 제작된 골이식재를 이용한 3차원 스캐폴드와 중합체를 이용한 스캐폴드를 직접 비교한 연구는 미흡하다.

이 연구에서는 토끼의 두개골 결손 모델을 이용하여 poly ϵ -caprolactone (PCL) 90%에 β -tricalcium phosphate (β -TCP) 10wt.%를 섞어서 만든 PCL/ β -TCP scaffold의 신생골 형성 효과를 방사선학적 분석과 조직학적 분석을 통해 기존의 콜라겐을 첨가한 이중골 스캐폴드와 합성골 스캐폴드와 비교하고자 하였다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 재료

이 연구에서는 세 가지 재료에 대해 비교연구를 진행하였다. 실험군 I 은 합성골과 collagen으로 만들어진 3D scaffold(synthetic bone with collagen, OsteonIII[®] collagen, Dentium, Seoul, Korea), 실험군 II는 이종골과 collagen으로 만들어진 3D scaffold (deproteinized bovine bone mineral with collagen, Bio-Oss[®] Collagen, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland)을 사용하였다. 실험군 III은 Polycaprolactone(PCL)와 β -tricalcium phosphate (β -TCP)를 사용하여 만들어진 3D scaffold를 사용하였다. 흡수성 차폐막인 Collagen membrane[®](GENOS. Suwon, Korea)을 경막의 영향을 차단하기 위하여 골결손부 하방에 적용하였다.

2. Scaffold 제작

PCL/ β -TCP scaffold는 3D printer(M4T-100, 3Dbio, Daegu, Korea)을 통해 3D 프린팅 기술 방식인 열용융적층모델링(Fused Deposition Modeling)을 사용하여 90%의 PCL과 10wt.%의 β -TCP를 혼합하여 필라멘트로 제작되었다. 온도 63°C, 분당 100mm 속도의 조건 하에서 nozzle 크기를 200 μ m로 조절하여 제작하였다. 필라멘트 두께 200 μ m로 0/90° lay-down pattern 과 stagger-type 이 적용된 네 층의 적층형태로 만들어 pore 크기가 300 μ m인 벌집구조 모양을 만들었다. Scaffold의 형태는 전계 방출형 주사 전자현미경(FE-SEM, S-4200, Hitachi, Japan)으로 관찰되었다(Fig. 1). PCL-TCP scaffold의 직경은 8mm, 높이는 약 0.8mm로 제작되었다.

합성골과 collagen으로 만들어진 3D scaffold(SB scaffold)는 hydroxyapatite(HA) 60% 와 beta-Tricalcium phosphate(β -TCP) 40%로 제작된 입자(OsteonIII[®])에 정제된 돼지의 collagen 10%를 첨가하여 블록형태로 제작되었고 감마선으로 살균되었다(Fig. 2). 이종골과 collagen으로 만들어진 3D scaffold (DBBM scaffold)는 탈회된 소의 해면골 입자(Bio-Oss[®])에 정제된 돼지의 collagen 10%를 첨가하여 블록형태로 제작되었고 감마선으로 살균되었다(Fig. 3).

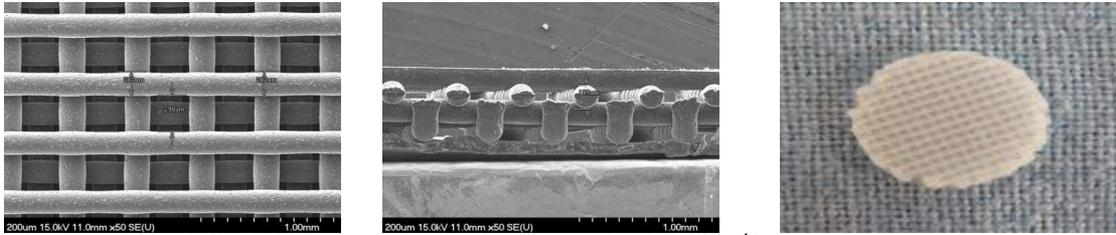


Figure 1. FE-SEM images and photograph of PCL/ β -TCP 3D scaffold.

The surface morphology of PCL/ β -TCP 3D scaffold was observed using FE-SEM(x50). The thickness of the filament was 200 μ m, and the size of the pores were 300 μ m.

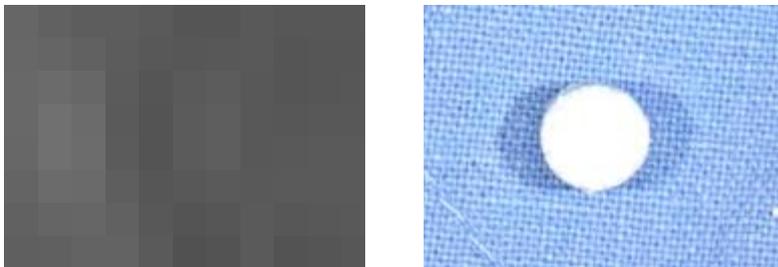


Figure 2. FE-SEM images and photograph of SB(synthetic bone) scaffold.

The surface morphology of SB scaffold was observed using FE-SEM(x1000). It is observed that collagen fibers are added to the synthetic bone.

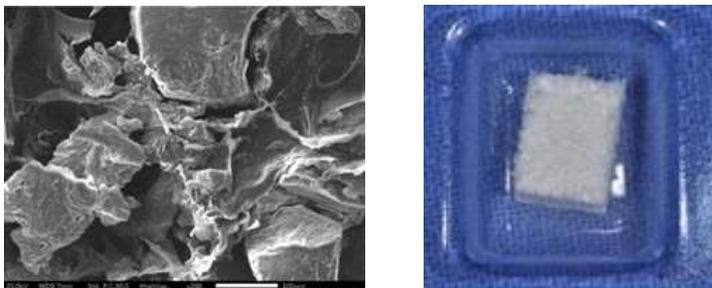


Figure 3. FE-SEM images and photograph of DBBM(Deproproteinized bovine bone mineral) scaffold.

The surface morphology of DBBM scaffold was observed using FE-SEM(x1000). It is observed that collagen fibers are added to the deproteinized bovine bone.

3. 동물

실험동물의 선택, 수술 및 수술 후 관리, 실험동물의 희생은 조선대학교 동물윤리위원회(IACUC) 승인 하에 진행되었다.(승인번호: CIACUC2019-S0009) 본 연구에서는 총 2.5~3.5kg 10마리의 수컷토끼(New Zealand White)가 사용되었다. 각각 5마리씩 무작위적으로 2주, 6주군으로 분류하여 실험을 진행하였다. 2주 6주군에서 각각 한 마리씩 총 2마리의 토끼가 수술 후 관찰기간동안 폐사하였다.

4. 실험 설계

토끼의 두개골 부위에 8mm 직경의 원형 골 결손부 4개를 형성하였다. 각각의 재료를 Table 1 과 Figure 4와 같이 적용하였다.

Table 1. Experimental groups

Experimental groups		
	Control	No scaffold
Group (2,6 weeks)	Test I	SB scaffold (OsteonIII [®] collagen)
	Test II	DBBM scaffold (Bio-Oss [®] Collagen)
	Test III	PCL/ β -TCP 3D scaffold

SB : synthetic bone, DBBM : deproteinized bovine bone mineral

PCL : Polycaprolactone, TCP : tricalcium phosphate

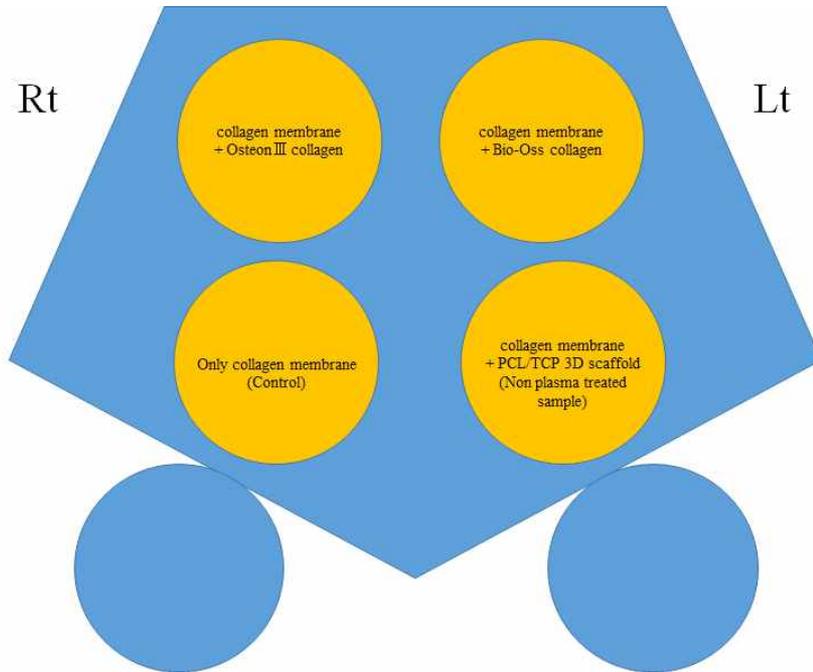


Figure 4. Schematic diagram of experimental group.

5. 실험 절차

토끼 전신마취를 하기 위하여 5mg/kg xylazine hydrochloride(Rumpun[®], Bayer Korea, Seoul, Korea) 와 15mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar[®], Yuhan, Seoul, Korea)을 혼합한 것을 대퇴부 근육에 주사하였다. 마취 후에, 두개부 위의 털을 제모한 뒤에 povidone iodine으로 소독하였다. 그 후 2% lidocaine HCL(Huons, Seoul, Korea)을 사용하여 국소마취 시행한 다음에 골막을 포함하여 전층판막을 거상하였다. 8mm 직경의 trephine bur(3i, USA)를 이용하여 뇌막까지 관통된 4개의 골결손부를 형성하였다. 4개의 골 결손부 하방에 흡수성 차폐막인 Collagen membrane[®](GENOS, Suwon, Korea)를 적용하여 뇌막과 분리하였다. 대조군에는 이식재를 적용하지 않았으며 실험군 I 은 골결손부에 SB scaffold을 적용하고, 실험군 II에는 DBBM scaffold을 적용하였다. 실험군 III에는 PCL/ β -TCP scaffold를 골결손부에 적용하였다. 각각의 재료를 골결손부에 적용한 뒤에 흡수성 봉합사 5-0 vicryl[®](Ethicon, Somerville, USA)을 이용하여 수평누상 봉합을 통해 골막을 고정하였다. 창상 부위는 5-0 Blue Nylon (AILEE, Busan, Korea)을 이용하여 단속봉합 시행하였다(Fig. 5). 수술 후 3일 동안 감염예방을 위해서 1 mg/kg Gentamycin(Dong-wa pharm, Seoul, Korea)을 주사하

었다. 수술 2주, 6주 뒤에 정맥 내 1mg/kg KCL을 토끼의 심장에 주사하여 희생시켰다. 토끼의 두개골의 판막을 전층 거상한 뒤에 Cutting disc bur(Komet dental, Lemgo, Germany)를 사용하여 실험 부위를 침해하지 않고 두개골을 제거하였다.

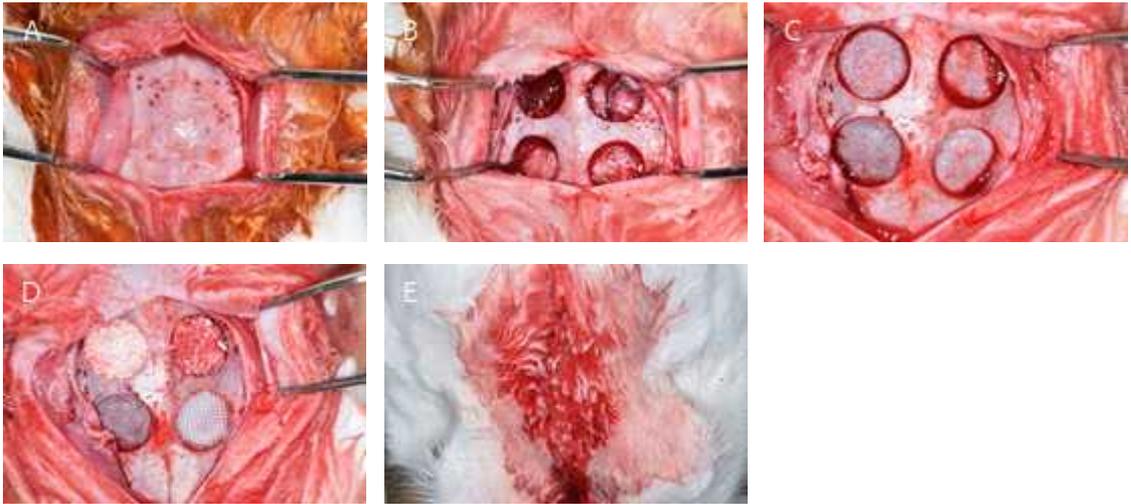


Figure 5. Surgical procedure.

(A) An elevation of full thickness flap was performed. (B) The four bone defects were made on the rabbit's calvaria. (C) The absorbable membranes were applied under the calvarial defects. (D) Each experimental materials were inserted into the calvarial defects. (E) Flap was closed with sutures.

6. 방사선학적 평가

골결손부를 포함한 두개골 절편을 10% formaldehyde에 고정하였으며, Micro Computed Tomography(Micro-CT) 촬영을 통해 분석하였다. Micro-CT 촬영은 한국기초과학연구원(KBSI, Gwangju, Korea)의 Quantum GX μ CT 이미지 시스템(PerkinElmer, Hopkinton, USA)을 사용하였고, 촬영 조건은 관전압 90kV, 관전류 88k 및 복셀 크기는 90 μ m으로 시행하였다. Analyze software 12.0(AnalyzeDirect, Overland Park, USA)을 사용하여 촬영 사진을 삼차원적으로 재구성하였고, 여러 방향에서 결손부 내 재광화된 신생 경조직의 부피를 평가하였다.

7. 조직학적 평가

10% formaldehyde에 고정된 골 절편을 15% 포르민산을 사용하여 14일 동안 탈회하였다. 탈회한 후 통법에 따라 탈수한 뒤에 파라핀에 포매하였다. 포매된 골 절편을 5 μ m의 두께로 박편을 만든 뒤에 Hematoxylin-Eosin(H&E) 염색과 Masson's trichrome(MT) 염색을 시행했다. 광학 현미경(Leica DM750, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)을 통해 절편을 관찰하였으며, 전자 현미경(Leica ICC50[®], Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)을 통해 Digital image을 얻었다. 이를 통해 신생골의 조직 형성을 평가하였다.

8. 통계 분석

각 그룹들의 실험값은 평균값과 표준편차로 나타내었다. 통계분석은 SPSS 26.0 software(SPSS, Chicago, USA)를 사용하였다. 각 실험군 사이에 통계적 유의미성 차이를 확인하기 위해 Kruskal-williams test를 사용하였고, 각 쌍의 통계적 유의성 확인을 위해 Mann-Whitney test를 시행하였다. $p < 0.05$ 는 통계적으로 유의한 것으로 간주되며, 신뢰수준은 95%에서 검증하였다.

III. 연구 결과

1. 방사선학적 평가 결과

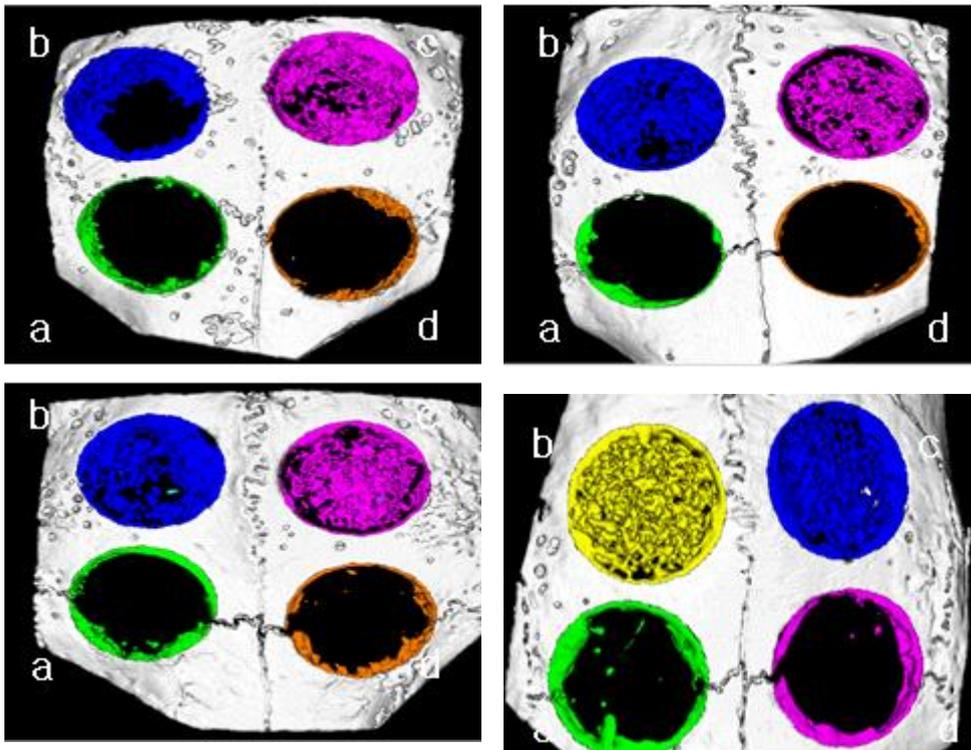
2주 및 6주군의 실험에서 대조군 및 실험군 I, II, III 모두에서 신생골의 형성이 관찰되었다. Micro-CT를 통해 대조군 및 실험군에서 신생골의 형성은 토끼 두개골 가장자리부터 시작하여 중심부로 확산되는 것을 확인할 수 있다 (Fig. 6, 7).

2주군의 실험에서 실험군 I 인 SB scaffold (OsteonIII[®] collagen)의 신생골의 평균 양은 40.43mm³으로 가장 많은 양이 관찰되었다. 실험군 III인 PCL/β-TCP 3D scaffold에서는 평균 양이 8.12mm³로 가장 적은 양이 관찰되었다. 대조군에서는 10.67mm³, 실험군 II인 DBBM scaffold (Bio-Oss[®] Collagen)에서는 37.32mm³의 양이 관찰되었다. 또한 대조군과 실험군간의 통계적인 유의성이 관찰되었다($p=0.008$). 각 군마다 비교하기 위하여 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 대조군과 실험군 I, II간에 p 값은 0.029($p<0.05$)로 유의미한 차이가 있었다. 대조군과 실험군 III간에 p 값은 0.343($p>0.05$)로 유의미한 차이가 없었다. 실험군 I, II와 실험군 III간에 p 값은 0.029($p<0.05$)로 유의미한 차이가 있었다. 실험군 I와 II간에 p 값은 0.686($p>0.05$)로 유의미한 차이가 없었다(Table 2).

6주군의 실험에서 실험군 I 인 SB scaffold (OsteonIII[®] collagen)의 신생골의 평균 양은 80.25mm³으로 가장 많은 양이 관찰되었다. 실험군 III인 PCL/β-TCP 3D scaffold에서는 평균 양이 29.72mm³로 가장 적은 양이 관찰되었다. 대조군에서는 41.90mm³, 실험군 II인 DBBM scaffold (Bio-Oss[®] Collagen)에서는 62.18mm³의 양이 관찰되었다. 대조군과 실험군간의 통계적인 유의성이 관찰되었다($p=0.005$). 각 군마다 비교하기 위하여 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 대조군과 실험군 I, II에서 p 값은 0.029($p<0.05$)로 유의미한 차이가 있었다. 대조군과 실험군 III에서 p 값은 0.57($p>0.05$)로 유의미한 차이가 없었다. 실험군 I, II와 실험군 III간에 p 값은 0.029($p<0.05$)로 유의미한 차이가 있었다. 실험군 I와 II간에 p 값은 0.057($p>0.05$)로 유의미한 차이가 없었다 (Table 3).

2주와 6주군 모두 실험군 I의 collagen이 첨가된 합성골에서 가장 많은 신생골 형성이 있었으며 실험군 III의 PCL/β-TCP 3D scaffold는 신생골 형성이 가장 적게 나타났다.

A



B

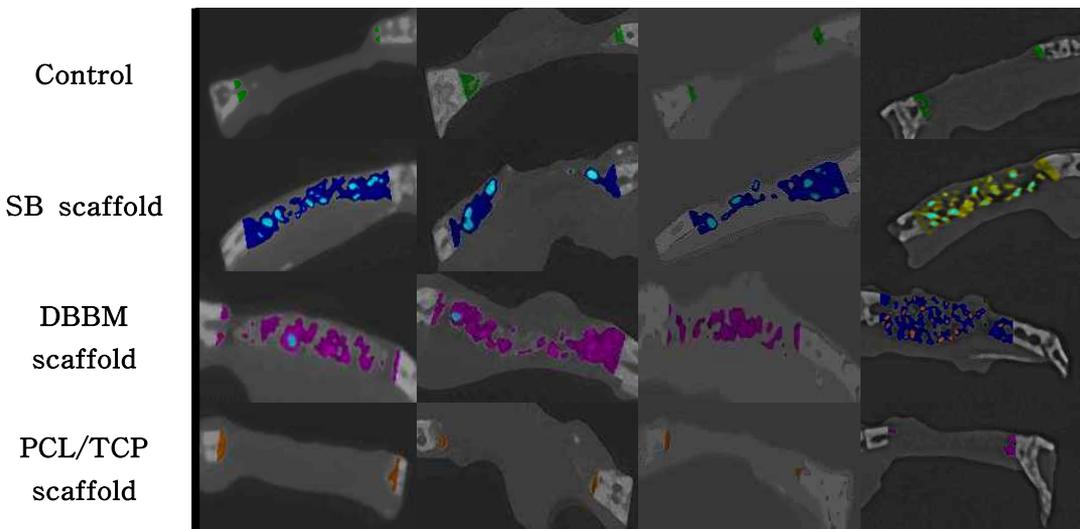


Figure 6. Micro-CT images of new bone formation of the experimental groups in 2 weeks. (A) Micro-CT image of rabbit clavicular defect. a, control group; b, SB(synthetic bone) scaffold group; c, DBBM(Deproproteinized bovine bone

mineral) scaffold group; d, PCL/ β -TCP 3D scaffold group.

(B)Micro-CT cross-sectional image corresponding to each defect

Table 2. Micro-CT analysis of the experimental groups in 2 weeks

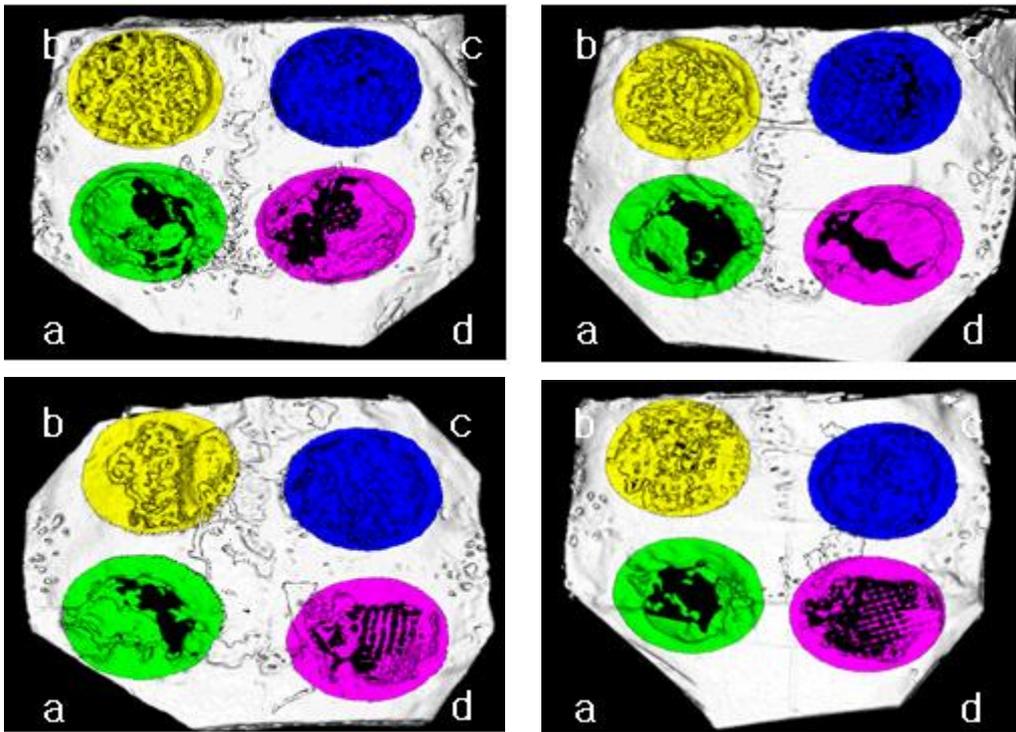
Groups (2 weeks)	Volume (mm ³)		<i>p</i> value			
	Mean \pm SD	Kruskal-Wallis test	Mann-Whitney U test			
			A	B	C	D
A Control	10.67 \pm 3.52		-	-	-	-
B Test I	40.43 \pm 6.11	0.008*	0.029*	-	-	-
C Test II	37.32 \pm 10.39		0.029*	0.686	-	-
D Test III	8.12 \pm 1.46		0.343	0.029*	0.029*	-

SD, standard deviation; Test I, SB scaffold (OsteonIII[®] collagen); Test II, DBBM scaffold (Bio-Oss[®] Collagen); Test III, PCL/ β -TCP 3D scaffold

* Statistically significant difference ($p < 0.05$; Kruskal Wallis test)

* Statistically significant difference ($p < 0.05$; Mann-Whitney U test)

A



B

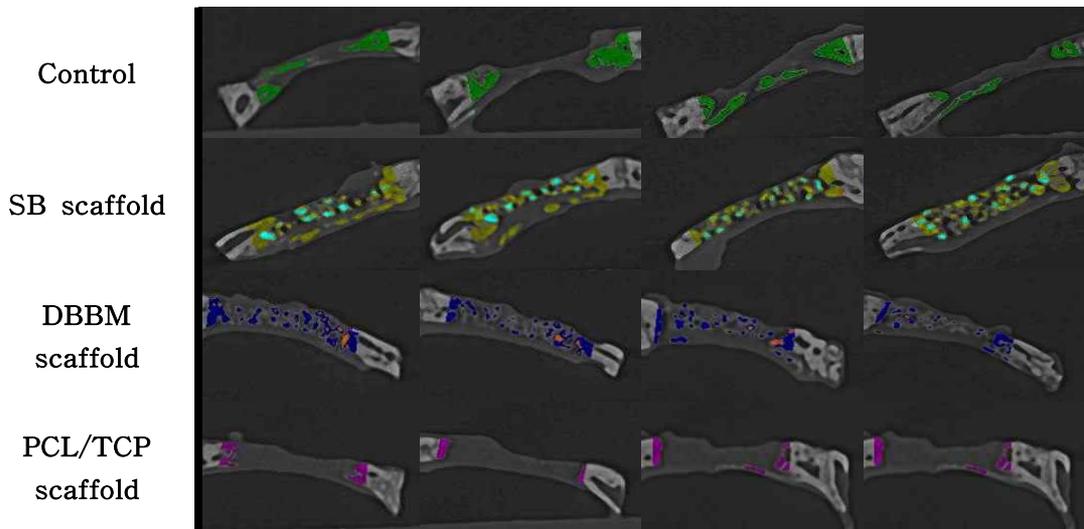


Figure 7. Micro-CT images of new bone formation of the experimental groups in 6 weeks. (A) Micro-CT image of rabbit clavicular defect. a, control

group; b, SB(synthetic bone) scaffold group; c, DBBM (Deproteinized bovine bone mineral) scaffold group; d, PCL/ β -TCP 3D scaffold group. (B)Micro-CT cross-sectional image corresponding to each defect

Table 3. Micro-CT analysis of the experimental groups in 6 weeks

Groups (6 weeks)		Volume (mm ³)		<i>p</i> value			
		Mean \pm SD	Kruskal-Wallis test	Mann-Whitney U test			
				A	B	C	D
A	Control	41.90 \pm 6.24		-	-	-	-
B	Test I	80.25 \pm 14.80	0.005*	0.029*	-	-	-
C	Test II	62.18 \pm 7.98		0.029*	0.200	-	-
D	Test III	29.72 \pm 5.65		0.057	0.029*	0.029*	-

SD, standard deviation; Test I, SB scaffold (OsteonIII[®] collagen); Test II, DBBM scaffold (Bio-Oss[®] Collagen); Test III, PCL/ β -TCP 3D scaffold

* Statistically significant difference ($p < 0.05$; Kruskal Wallis test)

* Statistically significant difference ($p < 0.05$; Mann-Whitney U test)

2. 조직학적 평가 결과

2주 후 조직학적 검사 결과, 대조군에서는 골결손의 변연부 한쪽에서 일부 신생골이 형성이 관찰되었으나, 다른쪽은 골변연부의 근처에만 국한되는 신생골 형성이 관찰된다. 또한 골결손부의 중앙부에서는 상대적으로 수직적으로 얇은 두께의 불규칙하게 연속된 결합조직이 관찰된다. 실험군 I 에서는 골결손부의 변연부뿐만 아니라 중앙부에서도 일부신생골 형성이 관찰되었고 수직적으로 균일한 신생조직을 형성하는 모습이 관찰되었으며, 골이식재사이로 결합조직형성도 관찰되었다. 실험군 II 에서는 골결손부의 변연부와 함께 중앙부에서 신생골형성이 관찰되었으며, 결합조직과 함께 수직적으로 균일한 두께의 신생조직의 형성이 관찰된다. 실험군 III 인 PCL/ β -TCP scaffold 에서는 골결손의 변연부에서 일부 신생골 형성이 관찰되었고, 중심부에서는 불규칙한 결합조직이 대조군에 비해 더 두껍게 신생조직을 형성하는 것이 관찰된다(Fig. 8,9).

6주 후 조직학적 검사 결과, 대조군에서는 골결손의 변연부에서 신생골이 형성이 관찰되나 그 양이 미약하였고 연속된 결합조직이 결손부 하방에서 관찰되었다. 이는 경막과 골막의 상방으로 위치되어 있는 차폐막의 영향에 의해 결합조직이 형성된 것으로 보인다. 실험군 I 에서는 골결손부의 변연부 뿐만 아니라 중앙부에서도 골이식재를 둘러싸는 증가된 신생골 형성이 관찰되었고 수직적으로 균일한 두께의 신생조직의 형성을 관찰할 수 있다. 실험군 II 에도 골결손부의 변연부 뿐만 아니라 중앙부에서도 신생골 형성이 증가되는 현상이 관찰되었으며, 골이식재와 신생골이 함께 잔존하면서 결합조직과 함께 신생조직을 이루는 모습이 관찰된다. 실험군 III 인 PCL/ β -TCP scaffold 에서는 골결손의 변연부에서 신생골 형성이 관찰되었으나, 그 양이 미비하였으며, 골결손부 내에서는 불규칙한 결합조직 형성이 관찰된다. 또한 일부에서는 scaffold 상방을 타고 중앙쪽으로 성장하는 신생골 형성을 관찰할 수 있었다(Fig. 10,11).

A

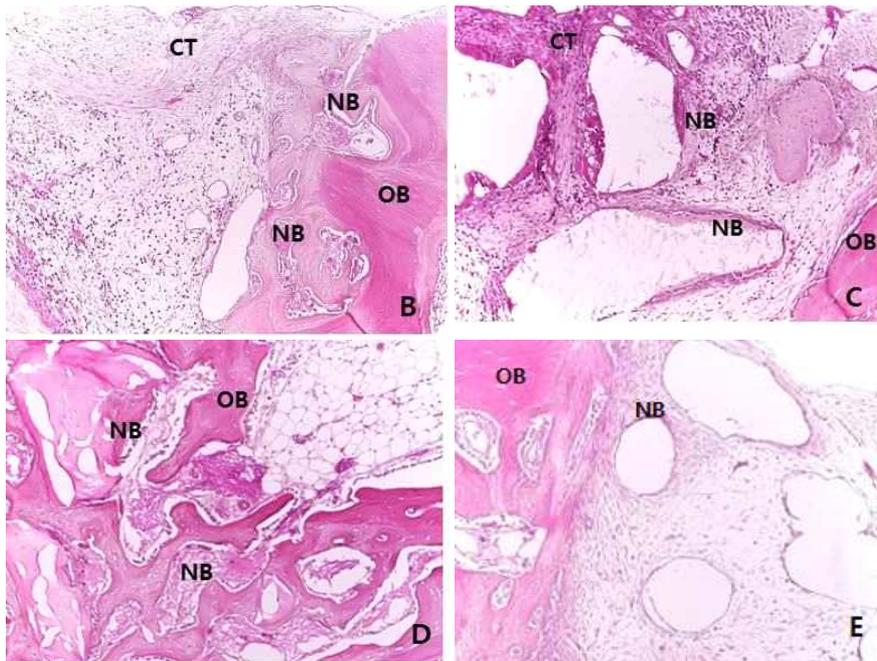
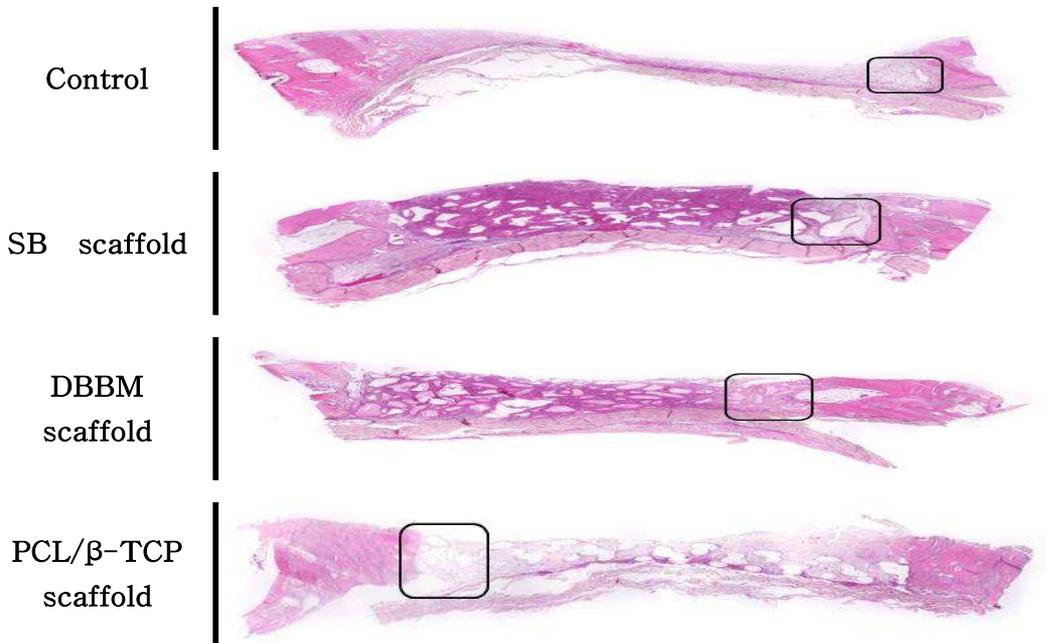


Figure 8. Histologic observation in 2 weeks experimental groups using H&E staining (A) The bone paraffin sections were observed by histological evaluation

using the H&E staining(40x). (B) In control group, a small amount of new bone and irregular connective tissue was observed at the margin of bone defect (100x). (C) In the SB scaffold group, a large amount of new bone was observed around the absorbed SB scaffold during the demineralization process, and this process of new bone formation occurs equally at the boundary or center of the bone defect (100x). (D) New bone formation was observed at the boundary of the bone defect, and bone formation was also observed in the center (100x). (E) New bone formation was weakly observed at the boundary of the bone defect, also bone formation was insignificant in the central part.

OB, original bone; NB, new bone; CT, connective tissue.

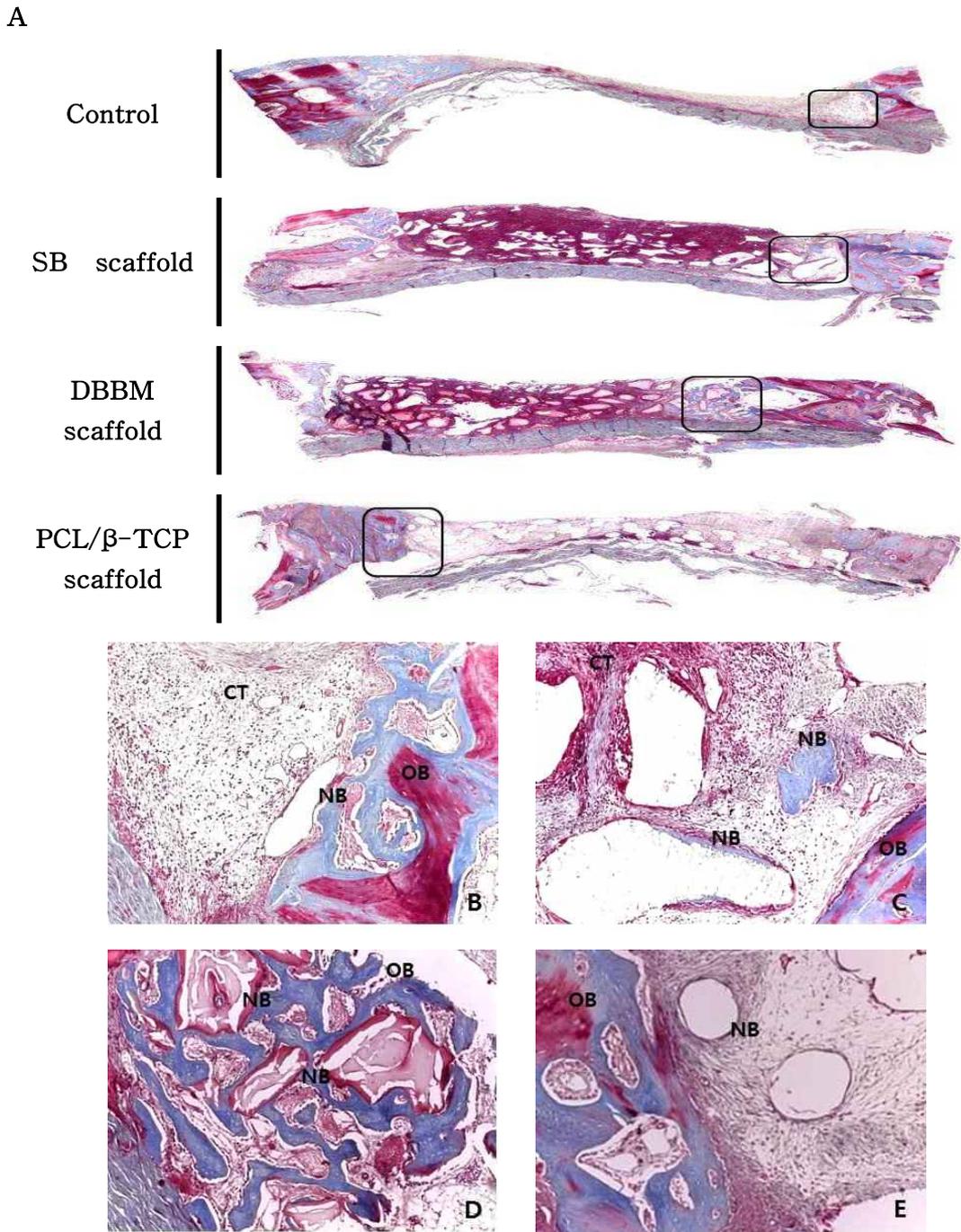


Figure 9. Histologic observation in 2 weeks experimental groups using MT staining (A) The bone paraffin sections were observed by histological evaluation using the MT staining(40x). (B) In control group, a small amount of new bone and

irregular connective tissue was observed at the margin of bone defect (100x).

(C) In the SB scaffold group, a large amount of new bone was formed at the margin of bone defect compared to the control group (100x). (D) New bone formation was observed at the boundary of the bone defect, and bone formation was also observed in the center (100x). (E) New bone formation was weakly observed at the boundary of the bone defect, also bone formation was insignificant in the central part.

OB, original bone; NB, new bone; CT, connective tissue.

A

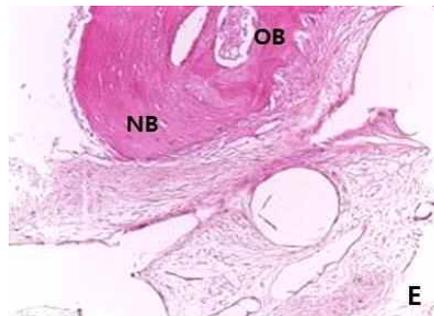
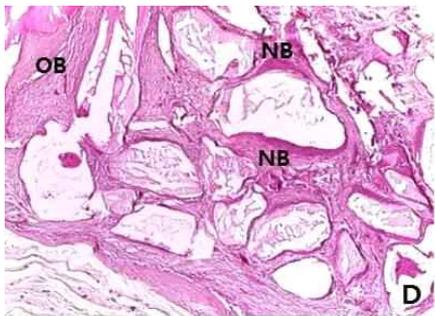
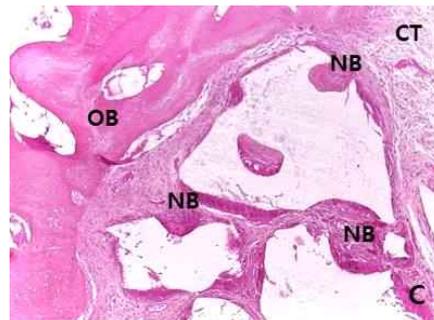
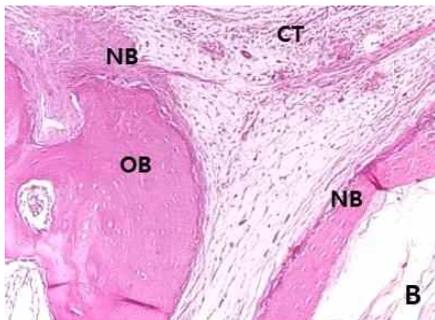
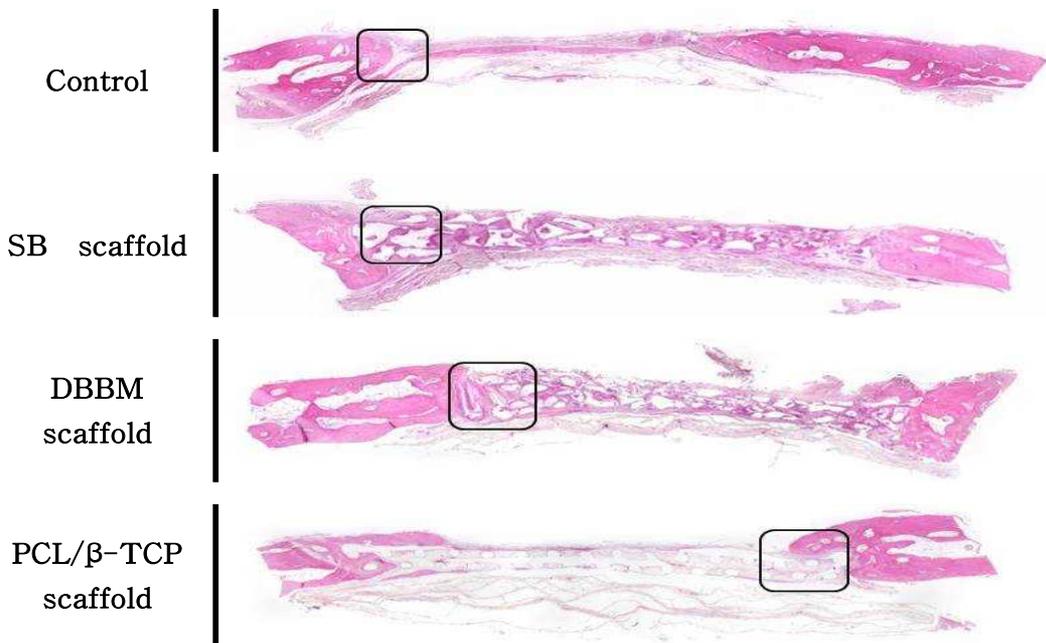


Figure 10. Histologic observation in 6 weeks experimental groups using H&E staining (A) The bone paraffin sections were observed by histological evaluation using the H&E staining(40x). (B) In the control group, maturation of new bone in

the bone defect was observed, and very thin new bone was observed along the lower part of the bone defect, but the amount seemed to be small (100x). (C) More new bone was observed around the SB scaffold compared to the control group, and it was observed that space maintenance was formed while maintaining the thickness of the skull (100x). (D) The amount of connective tissue decreases and new bone formation was observed between them, and it can be seen that new bone formation was occurring while maintaining the thickness of the bone defect (100x). (E) At the boundary of the defect, it was observed that new bone formation was formed up and down with PCL/ β -TCP 3D scaffold, but the new bone formation in the center was insufficient (100x).

OB, original bone; NB, new bone; CT, connective tissue.

A

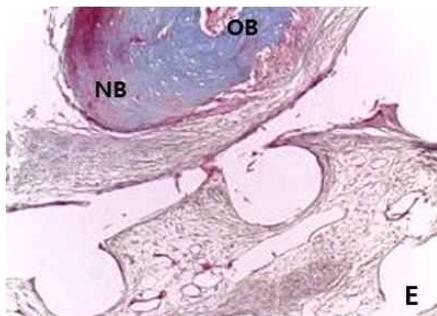
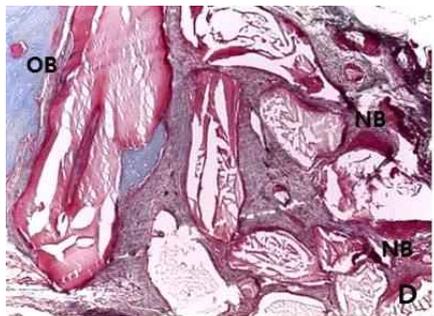
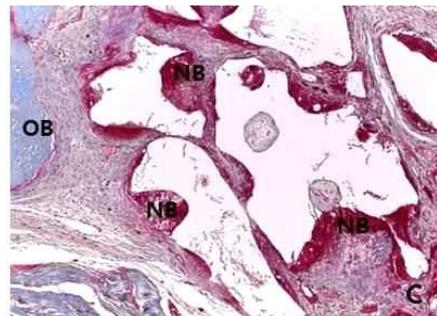
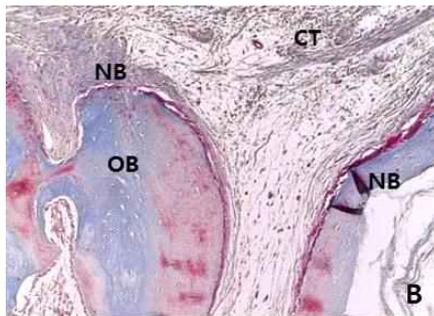
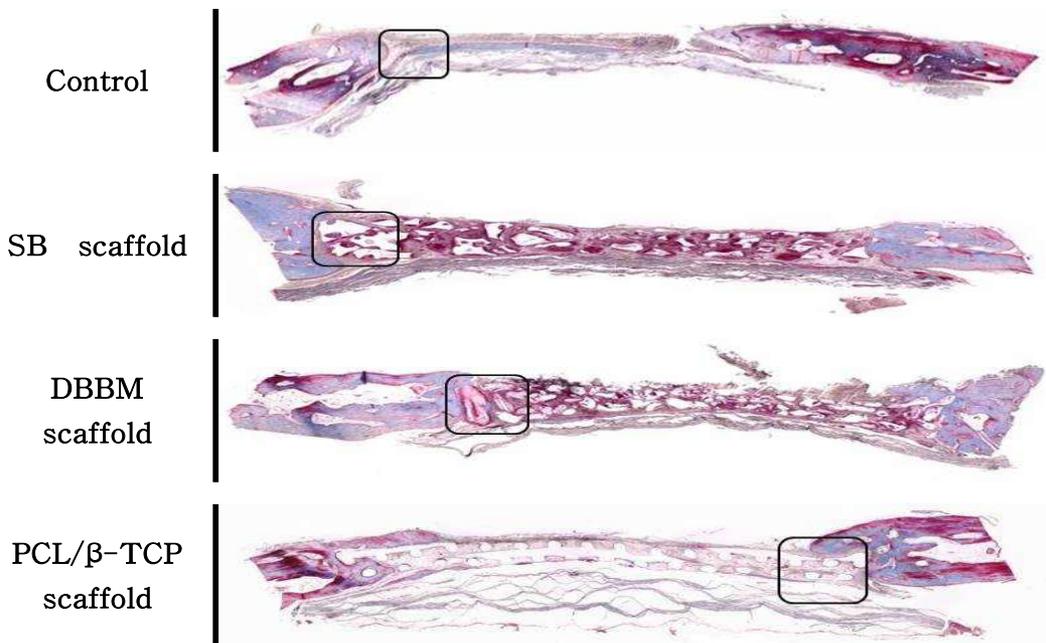


Figure 11. Histologic observation in 6 weeks experimental groups using MT staining (A) The bone paraffin sections were observed by histological evaluation using the MT staining(40x). (B) In the control group, maturation of new bone in

the bone defect was observed, and very thin new bone was observed along the lower part of the bone defect, but the amount seemed to be small (100x). (C) More new bone was observed around the SB scaffold compared to the control group, and it was observed that space maintenance was formed while maintaining the thickness of the skull (100x). (D) The amount of connective tissue decreases and new bone formation was observed between them, and it can be seen that new bone formation was occurring while maintaining the thickness of the bone defect (100x). (E) At the boundary of the defect, it was observed that new bone formation was formed up and down with PCL/ β -TCP 3D scaffold, but the new bone formation in the center was insufficient (100x).

OB, original bone; NB, new bone; CT, connective tissue.

IV. 총괄 및 고찰

심한 치조골 소실은 이상적인 임플란트 식립을 어렵게 한다. 잘못된 위치의 임플란트는 최종 임플란트 수복물의 출현 윤곽에 영향을 미치고 심미적인 문제를 일으킬 수 있으며 장기간의 성공률에 부정적 영향을 미칠 수 있다. 이를 해결하기 위해 골유도재생술이 가장 널리 이용되고 있으며 여러 문헌들에서 높은 성공률을 보고하고 있다[14,15]. 골유도재생술을 위한 다양한 외과적 수술방법 중 입자형 골이식재와 흡수성 차폐막의 적용이 널리 사용되고 있으며 예지성 있는 결과를 보여주고 있다.

골이식재는 3차원적인 뼈대 역할을 통해 골 결손부위에서 공간유지를 하고 골형성을 촉진하는 골전도기능을 한다. 골이식재 중 입자형은 수술 중 혹은 수술 이후 치유기간 동안 이식된 형태를 유지하지 못하고 흩어지는 임상적 한계가 존재한다. Mir Mari 등의 연구에서는 입자형 골이식재의 약 40%가 봉합 시 흩어지거나 전위되어 골유도재생술과 동시에 식립된 임플란트 주위에 열개 가능성이 증가한다고 보고하였다[16]. 이식된 부위의 공간 유지 및 안정성은 성공적인 GBR의 주요 요인 중 하나이기 때문에 골이식재의 흩어짐 또는 골 이식재의 전위는 수술 부위의 골 재생을 방해한다[1,17].

이 연구에서는 이식재의 공간유지 및 안정성 확보를 위해 3D printer를 사용하여 만든 PCL/ β -TCP 3D scaffold 와 입자형 골이식재에 콜라겐 첨가를 첨가하여 만든 블록 형태의 골이식재를 사용하였다. PCL/ β -TCP 3D scaffold는 골결손부에 맞게 3D printer로 제작될 수 있으며, 소수성인 PCL의 느린 흡수율 때문에 재혈관화, 골형성 세포의 분화 및 확산 등이 일어나는 동안 공간유지가 가능하다. 또한 면역학적 부작용도 관찰되지 않는다[6-10]. 입자형 골이식재에 collagen 첨가는 임상적으로 이식재의 취급을 용이하게 하며, 수술 시 골이식재를 골 결손부의 형태에 맞게 적용하여 고정 할 수 있어 공간유지와 안정화에 효과적이다. 어떤 결손의 형태에도 일관성 있게 적용이 가능하며 면역학적 부작용도 관찰되지 않았다[3,18]. 최근에는 동종골, 이종골과 같은 생물학적 이식편은 다른 사람 혹은 동물의 신체에서 채취되기 때문에 공급에 제한이 있을 수 있어서 생체 재료를 사용하여 만든 합성 생체 적합 물질의 필요성이 대두되었다. 현재 생체 재료를 이용하여 만든 3D scaffold 골이식재 대체물의 신생골 형성에 대한 다양한 연구가 이루어지고 있다[11-13].

이 연구에서는 poly ϵ -caprolactone (PCL)과 β -tricalcium phosphate (β -TCP)을 이용하여 제작한 3D scaffold의 신생골 형성 효과를 방사선학적 분석과 조직학적 분석을 통해 콜라겐을 첨가한 이종골 스케폴드(SB scaffold) 및 합성골 스케폴드(DBBM

scaffold)와 그 결과를 비교하고자 하였다.

수술 후 2주와 6주에서 대조군 및 실험군Ⅲ인 PCL/ β -TCP scaffold에서는 결손부의 가장자리에서 신생골의 양이 방사선학적, 조직학적으로 관찰되었다. 실험군Ⅱ와 Ⅲ은 가장자리 및 결손부 중심부에서 신생골의 양이 관찰되었다. 2주와 6주에서 모두 실험군Ⅰ인 SB scaffold의 평균 신생골 형성이 다른 두 실험군에 비해 높게 관찰되었다. 2주 및 6주 군 모두 실험군Ⅲ인 PCL/ β -TCP scaffold에서 평균 신생골 양이 가장 낮게 나타났다. 또한 2주, 6주군에서 PCL/ β -TCP scaffold의 신생골 양이 대조군보다 평균 신생골 형성이 더 낮게 관찰되었다. 이 차이는 결손부 형성 시 가장자리에 남은 골편, 그리고 수술 후 상부의 불완전한 골막 봉합, 하방의 경막의 불완전한 차단 및 손상 때문이라고 생각된다. 이식재 및 3D scaffold 적용 후 골막 손상 및 결손부 상방의 과도한 이식재에 의해 골막 봉합시 대조군 및 실험군Ⅰ 혹은 Ⅱ 부분의 상방은 피개 되었지만 PCL/ β -TCP scaffold는 부분적으로 피개 되었다. 이로 인해 연조직의 성장이 실험군Ⅲ 부위로 진행된 것으로 보이며 대조군의 골형성을 촉진시킨 것으로 생각된다. 또한 3D-scaffold의 구조 및 표면처리의 조건 또한 영향을 미치는 것으로 보인다.

골이식재의 대체물로 다공성의 scaffold의 성공 여부는 생체 재료의 구조에 달려있다. Scaffold 기공의 크기, 다공성, 기공의 모양, 섬유 방향, 상호연결성, 표면의 특성 및 기계적인 특성, 생체적합성 및 분해성이 이에 해당한다. 이런 구조 변화는 cell seeding의 효율성, 세포반응, 혈관신생, 골 형성 등에 영향을 미친다[19-21]. 골 이식재의 대체물인 3D-scaffold의 구조적 변수와 표면 특성의 변화가 골형성 과정에 어떤 영향을 미치는지에 대해 많은 연구가 수행되었다. 세포성장 및 영양소의 흐름을 위한 상호 연결된 다공성의 구조를 가지고 조직 교체에 맞춰 분해 및 흡수율을 조절할 수 있는 생체적합성 및 흡수성이 있으며 세포 부착, 증식, 분화에 적합한 표면의 화학적 특성, 이식 부위의 조직과 일치하는 기계적 특성을 가진 것이 이상적인 scaffold 라고 Thomson 등이 제안했다[22]. 작은 입자 크기와 큰 기공의 구성은 더 큰 표면적을 형성하여 더 빠른 생체 흡수와 향상된 골형성을 보여준다. 200-500 μ m의 기공 크기를 가진 다공성 구조의 scaffold는 혈관 및 골형성 세포의 내부 성장 환경을 제공할 수 있다. 또한 조골세포의 성장과 분화에 적합한 환경을 제공한다. 작은 기공을 가진 다공성의 구조는 높은 cell seeding 효율성을 보이지만, 산소 및 영양소의 공급이 부족하여 골재생 능력은 부족하다[23-25]. 높은 표면 거칠기를 가진 구조는 향상된 조골세포의 접착 및 기능, 증가된 세포외기질 단백질이 관찰된다고 보고되었다. 또한 scaffold 와 이식 부위와의 결합강도가 향상된다고 한다. 미세 구조의 거칠기가 향상 될 수 있다면 scaffold의

골전도성이 더 향상될 수 있다고 한다. Graziano 등의 연구에서 표면 거칠기가 증가된 scaffold가 부드러운 표면을 가진 scaffold 보다 더 높은 골형성 반응을 나타내었다고 보고했다[26]. Scaffold의 표면 특성은 세포의 접착, 부착 및 확산에 중요하다. CaP 코팅, HA 입자의 첨가 등은 표면 거칠기 및 다공성 재료의 생체 활성을 향상시킬 수 있다. 피브린, 피브로넥틴, 젤라틴, 성장 인자 및 프로테오글리칸 등의 단백질 복합물을 이용하여 스캐폴드를 코팅해서 표면 특성을 변화시키려는 여러 연구들도 소개되었다. Double protein-coated PCL scaffolds는 우수한 초기세포의 부착, 증식 및 집락화 등이 관찰되었다[27-29]. β -TCP의 첨가는 골전도 능력을 향상 및 분해속도를 조절할 수 있으며 소수성의 중합체에 친수성을 부여할 수 있다. β -TCP 혹은 CaP 등이 분해가 된 후에 생기는 칼슘이온은 줄기세포의 골형성 분화를 촉진한다. PCL은 상대적으로 소수성이기 때문에 Scaffold로 사용하기 위해서는 표면처리를 통해 친수성을 부여해야 한다. 물의 접촉각은 세포부착에 영향을 미치는데 최적의 물 접촉각의 값은 45 - 70° 또는 30 - 60° 범위인 것으로 보고되었다. 친수성을 부여하는 방법은 CaP coating, HA, β -TCP 등을 첨가하거나 Plasma 처리를 하는 것이다. 산소 Plasma 처리는 Scaffold 표면에 반응성을 향상시키는 산소기능기의 숫자를 증가시켜 친수성을 부여하고 표면의 거칠기를 변화시켜 세포성숙과 분화를 향상시킨다[30,31]. 이 연구에서 사용한 PCL/ β -TCP scaffold는 기공의 크기가 200 μ m이다. 혈관 및 골형성 세포의 성장을 위한 최소한의 크기로 설정하여 신생골 형성이 중심부로 이어지지 못하고 가장자리에 국한되어 형성된 것으로 보인다. 혈관형성을 위한 가장 이상적인 기공사이즈의 크기는 400 μ m인 것으로 알려져 있는 것으로 보아 기공크기 변화를 통한 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.[25] β -TCP의 비율 조절을 통해서 생물학적 반응성과 분해성을 제어할 수 있다. 본 연구에서는 10wt.% β -TCP를 사용하였으나 실험결과를 보았을 때 비율이 부족한 것으로 생각된다. Lam 등에 따르면 20wt.% β -TCP 첨가를 통해 표면 특성 개선, 젖음성 개선을 얻을수 있었고, 초기 골 형성이 향상되었다고 보고하였다[30]. 아직까지는 ‘이상적인’ 다공성 생체재료 설계를 위한 정보가 있지 않기 때문에 scaffold의 구조 및 표면조절을 통한 다양한 연구가 이루어지고 있다.

토끼 두개골의 결손 부위는 수많은 골이식재의 생물학적 안정성 및 골전도 및 유도성을 평가하기 위해 실험에 사용되고 있다[32,33]. 두개골을 통한 실험을 하는 경우에 자발적인 골 치유가 일어나지 않는 골 결손부의 크기를 설정하기 위해서는 critical size defect (CSD)를 고려해야 한다. CSD는 특정 기간 동안 치료를 받지 않으면 결손부위가 자연 치유되지 않거나 동물의 일생 동안 10% 미만의 뼈 재생을 보이는 동물의 가

장 작은 골내 결손부위로 정의된다. 수많은 연구들에서 토끼 두개골의 CSD는 10-15mm라고 말하고 있다[34-36]. Sohn 등에 의하면 11mm의 결손부와 15mm의 결손부는 골 결손부 회복에 있어서 큰 차이가 없다고 말하고 있다. 8mm의 골 결손부는 토끼 두개골 내에서 4개의 결손부를 형성할 수 있기 때문에 여러 재료를 비교하기에 적합하며, 재료의 안정성이나 숙주의 반응과 같은 초기 치유반응을 평가하는데 적합하다고 말하고 있다[37]. Hammerle 등은 8mm의 결손은 재골화 평가에서 CSD보다 작은 것으로 알려져 있으나, 골유도 및 골전도 효과를 판단하기 위한 유용한 결손모델이라고 제시하고 있다[32]. 본 연구에서는 PCL/ β -TCP scaffold를 다른 두 재료와 비교하기 위해서 8mm의 4개의 결손부를 형성하여 실험을 진행하였다.

수술 후 결손부위 평가의 기간의 중요성도 여러 연구에서 언급하고 있다. 보통 재료의 안정성이나 숙주의 반응과 같은 초기 치유반응을 평가할 때는 2-4주의 치유기간이 권장되며, 골 결합, 재료의 흡수, 골 재형성 혹은 골 재생량과 같은 후기 치유를 평가할 때는 8주 이상의 치유기간이 권장된다고 하고 있다. Greenwald 등은 골결손부 신생골 형성에 있어서 가장자리와 중심부가 차이가 있다는 것을 밝혔으며, 골 결손부의 가장자리와 골막과 경막 사이에서 골형성이 이루어진다고 말했다. 경막은 골형성 가능성이 높지만 보통 손상이 되기 때문에 피질골에 혈액을 공급해주는 골막과 결손의 가장자리에서 주로 골형성이 된다고 한다[38]. 실험에서 변수를 제거하기 위해서는 경막을 편셋 등으로 제거하거나 흡수성 차폐막을 적용하여 차단하고 연조직 함입을 배제하기 위해 골막봉합을 통한 이식재 상방의 완전 피개를 이루어야 한다. 토끼 두개골을 통한 골이식재의 실험시 위와 같은 내용을 바탕으로 실험설계를 진행해서 일관성 있고 정확한 결과를 얻을 수 있도록 해야 한다.

이 연구에서 PCL/ β -TCP scaffold와 비교하기 위해 HA 60%와 β -TCP 40%의 합성골에 콜라겐 함유가 첨가된 골이식재와 deproteinized bovine cancellous bone에 콜라겐 함유가 첨가된 골이식재를 사용하였다. Deproteinized bovine cancellous bone은 소뼈에서 유기물 성분을 완전히 제거하여 만들어져서 천연의 비항원성 다공성 뼈 기질로 이루어져 있으며 사람의 뼈와 유사한 구조로 이루어져 있고 우수한 골전도성을 가지고 있다. Wong 등의 연구에서 Deproteinized bovine cancellous bone 과립의 표면은 과립 주위에 새로운 뼈가 형성됨에 따라 광물화를 촉진하는 특성을 보여주었다[17,39]. 합성골은 항원성의 부재, 질병 전파 가능성 없음, 제한이 없는 공급 등의 장점을 가지고 있어 많은 연구가 이루어지고 있다. 합성골은 보통 신생골이 성장할 수 있는 골격을 제공하는 Hydroxyapatite(HA)와 생물학적 활성도가 높은 β -tricalcium phosphate

(β -TCP)를 적절히 혼합하여 제작한다. HA와 β -TCP의 이상적인 비율을 알아내고자 많은 연구가 이루어 졌다. HA의 비율이 β -TCP 보다 높은 것이 신생골 형성에 있어서 더 우수하다고 밝혀졌다. Nery 등의 연구에서는 HA 60% 와 β -TCP 40% 혼합한 합성골이 가장 이상적인 비율이라고 주장했다[19,20]. Ortiz-Puigpelat 등의 연구에서 OsteonIII(60% HA + 40% β -TCP)는 다른 합성골에 비해 조골세포 및 파골세포 활성화 면에서 우수한 scaffold 특성을 보여주었다[21].

이번 연구는 수술방법 및 결손부의 직경에 있어서 통일성을 유지하였으나, 모든 변수가 통제되지 않은 한계점이 존재한다. 이 연구에서 골 결손부의 높이가 일정하지 않았으며, trephine bur로 결손부 형성 시 경막을 손상시키지 않기 위하여 불완전한 골삭제가 이루어져 가장자리에 골편이 남아있었다. 또한 골형성에 영향을 줄 수 있는 경막과 골막에 대한 완전한 통제가 이루어지지 않았다. Collagen이 첨가된 합성골 및 이중골의 block 형태를 골 결손부에 적용 시 모든 토끼에서 같은 양의 골양을 적용시키지 못한 것도 골형성에 영향을 미친 것으로 보인다. 실험 기간이 2주 및 6주군은 짧은 기간에 해당하여 골형성의 초기 치유기간에 해당하므로 향후 8주 이상의 장기간의 결과 분석도 필요할 것으로 보인다.

V. 결론

이 연구에서, 임상적으로 널리 사용되고 있는 SB scaffold(OsteonIII[®] collagen) 및 DBBM scaffold(Bio-Oss[®] Collagen)와 비교하여 PCL/ β -TCP를 이용하여 제작한 3D scaffold의 골형성 효과에 대한 방사선학적 평가 및 조직학적 평가를 시행하였다.

이 연구를 통해, 다음과 같은 실험결과를 도출 할 수 있었다.

1. 90%의 PCL과 10wt.%의 β -TCP를 혼합하여 200 μ m 직경의 필라멘트로 제작된 PCL/ β -TCP 3D scaffold의 골 형성량은 SB scaffold(OsteonIII[®] collagen) 및 DBBM scaffold(Bio-Oss[®] Collagen)와 비교해서 적게 관찰되었다.
2. PCL/ β -TCP 3D scaffold에서 염증 반응이 나타나지 않고 골 결손부 가장자리부터 신생골 형성이 관찰되었다.
3. 6주 후 조직학적 평가에서 PCL/ β -TCP 3D scaffold을 이식한 골결손부 일부에서는 scaffold 상방을 타고 중앙쪽으로 성장하는 신생골 형성이 관찰되었다.
4. PCL/ β -TCP 3D scaffold가 6주 동안 흡수되지 않고 골 결손부 공간을 유지하고 있는 것이 관찰되었다.

이를 바탕으로 PCL/ β -TCP가 기존의 골이식재의 대체제로써 이용 가능할 수 있을 것으로 기대된다.

향후 PCL과 β -TCP의 비율, 다른 중합체와의 결합, scaffold 구조 및 표면처리 변화를 통해 신생골 형성에 있어서 이상적인 재료의 비율, scaffold 의 구조 및 조건을 찾기 위한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 골결손부의 범위가 큰 조건 하에서 PCL/ β -TCP 3D scaffold의 공간유지와 안정성 및 골전도성을 평가해야 할 것으로 보인다. 위와 같은 추가적인 연구를 통해 신생골 형성 양상이 확인이 된다면 향후 범위가 넓은 골 결손부위에서 공간유지를 위한 이상적인 골이식재 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Wang HL, Boyapati L. “PASS” principles for predictable bone regeneration. *Implant Dent.* 2006;15(1):8-17.
2. Wong R, Rabie A. Effect of bio-oss® collagen and collagen matrix on bone formation. *Open Biomed Eng J.* 2010;4:71.
3. Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand D, Nelson J, Nelson K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: a prospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(12):1219.
4. Lee EU, Kim DJ, Lim HC, Lee JS, Jung UW, Choi SH. Comparative evaluation of biphasic calcium phosphate and biphasic calcium phosphate collagen composite on osteoconductive potency in rabbit calvarial defect. *Biomater Res.* 2015;19(1):1-7.
5. Patino MG, Neiders ME, Andreana S, Noble B, Cohen RE. Collagen as an implantable material in medicine and dentistry. *J Oral Implantol.* 2002;28(5):220-5.
6. Dwivedi R, Kumar S, Pandey R, Mahajan A, Nandana D, Katti DS, et al. Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2020;10(1):381-8.
7. Nair LS, Laurencin CT. Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog Polym Sci.* 2007;32(8-9):762-98.
8. Gunatillake PA, Adhikari R, Gadegaard N. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *Eur Cell Mater.* 2003;5(1):1-16.
9. Mondal D, Griffith M, Venkatraman SS. Polycaprolactone-based biomaterials for tissue engineering and drug delivery: Current scenario and challenges. *Int J Polym Mater.* 2016;65(5):255-65.
10. Entezari A, Roohani I, Li G, Dunstan CR, Rognon P, Li Q, et al. Architectural design of 3D printed scaffolds controls the volume and functionality of newly formed bone. *Adv healthc mater.* 2019;8(1):1801353.
11. Castilho M, Pires I, Gouveia B, Rodrigues J. Structural evaluation of

scaffolds prototypes produced by three-dimensional printing. *Int J Adv Manuf Technol.* 2011;56(5-8):561-9.

12. Yousefi AM, Gauvin C, Sun L, DiRaddo RW, Fernandes J. Design and fabrication of 3D plotted polymeric scaffolds in functional tissue engineering. *Polym Eng Sci.* 2007;47(5):608-18.

13. Hutmacher DW, Schantz T, Zein I, Ng KW, Teoh SH, Tan KC. Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling. *J Biomed Mater Res.* 2001;55(2):203-16.

14. Esposito M, Grusovin MG, Willings M, Coulthard P, Worthington HV. The effectiveness of immediate, early, and conventional loading of dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007;22(6).

15. Hämmerle CH, Jung RE, Feloutzis A. A systematic review of the survival of implants in bone sites augmented with barrier membranes (guided bone regeneration) in partially edentulous patients. *J Clin Periodontol.* 2002;29:226-31.

16. Mir Mari J, Wui H, Jung RE, Hämmerle CH, Benic GI. Influence of blinded wound closure on the volume stability of different GBR materials: an in vitro cone beam computed tomographic examination. *Clin Oral Implants Res.* 2016;27(2):258-65.

17. Trevisiol L, Nocini PF, Albanese M, Sbarbati A, D'Agostino A. Grafting of large mandibular advancement with a collagen-coated bovine bone (Bio-Oss Collagen) in orthognathic surgery. *J Craniofac Surg.* 2012;23(5):1343-8.

18. Cordaro L, Bosshardt DD, Palattella P, Rao W, Serino G, Chiapasco M. Maxillary sinus grafting with Bio Oss® or Straumann® Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(8):796-803.

19. Nery E. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/TCP in periodontal osseous defects. *J Periodontol.* 1992;63:729-35.

20. Klein C, Driessen A, De Groot K, Van den Hooff A. Biodegradation

behavior of various calcium phosphate materials in bone tissue. *J Biomed Mater Res.* 1983;17(5):769-84.

21. Ortiz-Puigpelat O, Elnayef B, Satorres-Nieto M, Gargallo-Albiol J, Hernández-Alfaro F. Comparison of three biphasic calcium phosphate block substitutes: A histologic and histomorphometric analysis in the dog mandible. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2019;39(3):315-323.

22. Thomson R, Wake M, Yaszemski M, Mikos A. Biodegradable polymer scaffolds to regenerate organs. *Biopolymers* li. 1995:245-74.

23. Tsuruga E, Takita H, Itoh H, Wakisaka Y, Kuboki Y. Pore size of porous hydroxyapatite as the cell-substratum controls BMP-induced osteogenesis. *J Biochem.* 1997;121(2):317-24.

24. Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials.* 2005;26(27):5474-91.

25. Bobbert FSL, Zadpoor AA. Effects of bone substitute architecture and surface properties on cell response, angiogenesis, and structure of new bone. *J Mater Chem B.* 2017;5(31):6175-6192

26. Graziano A, d'Aquino R, Cusella-De Angelis MG, Laino G, Piattelli A, Pacifici M, et al. Concave pit-containing scaffold surfaces improve stem cell-derived osteoblast performance and lead to significant bone tissue formation. *PloS one.* 2007;2(6):e496 1-9.

27. García Garetá E, Hua J, Blunn GW. Osseointegration of acellular and cellularized osteoconductive scaffolds: is tissue engineering using mesenchymal stem cells necessary for implant fixation? *J Biomed Mater Res A.* 2015;103(3):1067-76.

28. Bhumiratana S, Grayson WL, Castaneda A, Rockwood DN, Gil ES, Kaplan DL, et al. Nucleation and growth of mineralized bone matrix on silk-hydroxyapatite composite scaffolds. *Biomaterials.* 2011;32(11):2812-20.

29. Lao L, Wang Y, Zhu Y, Zhang Y, Gao C. Poly (lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite nanofibrous scaffolds fabricated by electrospinning for bone tissue engineering. *J Mater Sci Mater Med.* 2011;22(8):1873-84.

30. Lam CX, Hutmacher DW, Schantz JT, Woodruff MA, Teoh SH.

Evaluation of polycaprolactone scaffold degradation for 6 months in vitro and in vivo. *J Biomed Mater Res A*. 2009;90(3):906-19.

31. Zhang C, Chen P, Sun B, Li W, Wang B, Wang J. Surface analysis of oxygen plasma treated poly (p-phenylene benzobisoxazole) fibers. *Appl Surf Sci*. 2008;254(18):5776-80.

32. Hämmerle C, Schmid J, Olah A, Lang N. Osseous healing of experimentally created defects in the calvaria of rabbits using guided bone regeneration. A pilot study. *Clin Oral Implants Res*. 1992;3(3):144-7.

33. Lundgren D, Nyman S, Mathisen T, Isaksson S, Klinge B. Guided bone regeneration of cranial defects, using biodegradable barriers: an experimental pilot study in the rabbit. *J Craniomaxillofac Surg*. 1992;20(6):257-60.

34. Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S. Proportion of deproteinized bovine bone and autogenous bone affects bone formation in the treatment of calvarial defects in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2009;38(4):356-62.

35. Xu S, Lin K, Wang Z, Chang J, Wang L, Lu J, et al. Reconstruction of calvarial defect of rabbits using porous calcium silicate bioactive ceramics. *Biomaterials*. 2008;29(17):2588-96.

36. Shand J, Heggie A, Holmes A, Holmes W. Allogeneic bone grafting of calvarial defects: an experimental study in the rabbit. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2002;31(5):525-31.

37. Sohn JY, Park JC, Um YJ, Jung UW, Kim CS, Cho KS, et al. Spontaneous healing capacity of rabbit cranial defects of various sizes. *J Periodontal Implant Sci*. 2010;40(4):180-7.

38. Greenwald JA, Mehrara BJ, Spector JA, Chin GS, Steinbrech DS, Saadeh PB, et al. Biomolecular mechanisms of calvarial bone induction: immature versus mature dura mater. *Plast Reconstr Surg*. 2000;105(4):1382-92.

39. Wong RW, Rabie AB. Effect of bio-oss collagen and collagen matrix on bone formation. *Open Biomed Eng J*. 2010;4:71-76.