[UCI]I804:24011-200000233941

2007년 2월
석사학위논문

국산 흡수성 차단막의 개발을 위한 실험적 연구

조선대학교 대학원

치 의 학 과

태 일 성

국산 흡수성 차단막의 개발을 위한 실험적 연구

An Experimental Study for Developing Bioresorbable Membranes

2007년 2월 23일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

태 일 성

국산 흡수성 차단막의 개발을 위한 실험적 연구

지도교수 김 학 균

이 논문을 석사학위신청 논문으로 제출함

2006년 10월

조선대학교 대학원

치 의 학 과

태 일 성

태일성의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교 수 김 홍 중 인

위원 조선대학교 교 수 김 수 관 인

위원 조선대학교 교 수 김 학 균 인

2006년 11월

조선대학교 대학원

목 차

표목차 ii
도목차 iii
Abstract iv
I. 서 론 1
II. 실험재료 및 실험동물 3
1. 실험재료 3
2. 실험동물 3
III. 연구방법 4
1. 실험방법 4
2. 실험동물 희생 4
3. 조직학적 검사 4
IV. 결과 5
1. 조직학적 소견 5
2. 골형성 효과 비교 5
3. 차단막의 잔존율 비교 6
V. 고찰 7
VI. 결론 13
참고문헌 14
사진부도 설명 20
사진부도 22

표 목 차

Table 1. The Quantity of New Bone Formation ——— 6

Table 2. The Remaining Rate of the Membranes ——— 8

도 목 차

Figure 1. Photomicrograph of experimental group 1 at 4 weeks (×40) 22
Figure 2. Photomicrograph of experimental group 2 at 4 weeks (×40) 22
Figure 3. Photomicrograph of experimental group 3 at 4 weeks (×40) 22
Figure 4. Photomicrograph of experimental group 4 at 4 weeks (×100) 22
Figure 5. Photomicrograph of experimental group 5 at 4 weeks (×40) 23
Figure 6. Photomicrograph of experimental group 1 at 8 weeks (×100) 22
Figure 7. Photomicrograph of experimental group 2 at 8 weeks (×40) 23
Figure 8. Photomicrograph of experimental group 3 at 8 weeks (×40) 23
Figure 9. Photomicrograph of experimental group 4 at 8 weeks (×40) 23
Figure 10. Photomicrograph of experimental group 5 at 8 weeks (×40) 23

ABSTRACT

An Experimental Study for Developing Bioresorbable Membranes

Tae, Il-Sung
Advisor : Prof. Kim, Hak-Kyun, D.D.S., M.S. D.
Department of Dentistry,
Graduate School of Chosun University

The purpose of this study was comparing the effect of 4 newly designed bioresorbable membranes on bone regeneration in rat cranial defects. Standardized artificial bony defects were prepared at 30 rat craniums, and covered with polydioxanone(PDS), PDS/F-127, polylactide glycolic acid(PLGA), and PLGA/F-127 membranes, respectively. So The animals were classified 5 groups; group 1 - no membrane (6 rats), group 2 - PDS (6), group 3 - PDS/F-127 (6), group 4 - PLGA (6), and group 5 - PLGA/F-127 (6). These animals were sacrificed at 4 and 8 weeks and the operation to make specimens was done and the specimens were observed with light microscopy. The comparative effects in the bone regeneration of each groups were evaluated and the remaining rate of each membranes were analysed.

The new bone formation was greater in PLGA and PLGA/F-127 membrane groups than PDS or PDS/F-127 groups. And the former groups were resorbed more lately than the latter. PLGA/F127 was good to manipulate because of its hydrophillic property, but resorbed more rapidly than PLGA. So, the amount of new bone formation in groups using PLGA/F127 was less than in groups using PLGA. In conclussion, PLGA was the best membranes among the membranes used in this study.

I. 서 론

치과 임프란트학이 계속해서 발전하면서 임플란트 식립 중에 임프란트 주변 골 결손부에 대한 골유도재생술(GBR; guided bone regeneration) 또한 필수 불가결한 술식이 되었다. 골결손부의 치유과정 중에는 조직내의 다양한 세포 성분들이 결손부로의 상이한 이동률을 나타낸다. 하지만 골형성에 있어서는 상피나 결합조직과 같은 연조직이 골결손부로 빠르게 유입되면 골형성을 방해하는 요소가 되므로 이러한 연조직의 유입을 물리적으로 차단하는 원리를 연구하게 되었으며 이에 기초한 것이 Nyman 등[1]과 Gottlow 등[2]에 의해 제시된 조직유도재생술이며 임프란트가 발달함에 따라 골형성에 관한 연구도 활발히 진행되고 있다.

골 이식재 뿐만 아니라 GBR 시에 사용되는 골이식재와 차단막에 대한 연구도 괄목할 만하게 많이 시행되고 있는데 특히 골이식 시 이식재 내로의 결합조직의 성장을 막아주는 역할을 하는 차단막의 존재는 GBR 시에 가장 중요한 요소 중의 하나라고 할 수 있다. 골 결손부의 형태에 따라서 주변골벽에 의해 지지되는 차단막은 적절한 물리적, 화학적 성질을 가져야 하며, 생체 친화성 또한 요구된다[3].

현재 치과 임상에서 사용되고 있는 골유도재생술을 위한 차단막의 종류는 매우 많다. 그리고 이러한 차단막 중에는 흡수성 차단막과 비흡수성 차단막이 있는데, 흡수성 차단막 중 대표적인 expanded polytetrafluoroethylene (e-PTFE)는 그 효과가 우수함에도 나중에 부가적인 제거 술식을 시행해야 하고, 차단막의 노출이나 세균의 집락 등의 단점이 존재하여[4] 여러 연구자들은 흡수성 차단막에 대한 연구도 시행하고 있다.

흡수성 차단막은 부가적인 수술 없이 체내에서 퇴화(degradation)되기 때문에 그 사용이 늘어나고는 있지만 각각의 재료 혹은 상품마다 흡수정도 및 흡수되는 데까지 걸리는 기간 등이 다르기 때문에 골이 형성되는 정도 또한 다르다. 물론 이러한 차단막들은 여러 실험적 검증을 거쳐서 상품화되어 현재에 시판되고 있다. 그러나 거의 대부분이 외국에서 만들어진 제품이어서 그 가격이 매우 비싼 경향이 있으며 현재 널리 사용 중인 흡수성 차단막 중 polydioxanone (PDS), polylactide glycolic acid (PLGA)는 소수성으로 구강 내에 적용이 다소 어려운 부분이 있다.

Pluronic F-127은 현재 약물전달에 대한 효능을 증가시키기 위한 목적으로 많은 실험연구가 이루어지고 있는 물질로서 저온에서 액상을 띠다가 고온에서는 semisolid type을 띠는 계면활성제이며 자체가 친수성을 띠므로 구강내 영역에

서 소수성의 차단막을 사용할 때의 조작성을 용이하게 할 수 있을 것으로 보인다.

본 연구의 목적은 새로운 국산의 흡수성 차단막을 개발함으로써 치과 임상에 비교적 저렴하고 우수한 차단막을 공급하고자 하는데 있으며, 현재 개발 중에 있는 4종의 다른 흡수성 차단막이 골재생에 미치는 효과를 상대적으로 비교하는데 있다.

II. 실험재료 및 실험동물

현재 개발 과정 중에 있는 4종의 흡수성 차단막의 골 재생 효과를 비교하여 그 중 더 우수한 차단막을 선택하여 집중적으로 연구하고자 하는 첫 번째 단계로서, 백서의 두개골에 인위적인 골 결손부를 형성한 후, 각기 다른 4종의 차단막으로 덮어서 4주, 8주 후에 골 재생 효과와 차단막의 잔존 정도를 상대적으로 비교하였다.

1. 실험재료

본 연구에서 사용된 흡수성 차단막은 LA(lactic acid)/GA(glycolic acid) molar ratio가 85:15이고 분자량 110,000인 PLGA(polylactide glycolic acid) 차단막과 여기에 Pluronic F-127을 결합시켜 친수성을 갖게 한 PLGA/F-127 차단막을 사용하였으며, 마찬가지로 분자량 2,000,000 이하의 PDS (polydioxanone) 차단막과 PDS/F-127 친수성 차단막을 사용하였다. 각각의 차단막은 Ethylene oxide 가스로 저온 멸균하여 사용하였다.

① PDS (polydioxanone; Mw,-2,000,000) hydrophobic membrane
② PDS/F-127 hydrophilic membrane
③ PLGA (polylactide glycolic acid) hydrophobic membrane
④ PLGA/F-127 hydrophilic membrane

2. 실험동물

동일조건하에서 일정기간 사육한 태생 6주 이상, 250g 이상의 Sprague-Dowley계 백서의 두개골에 직경 8mm의 전층결손부를 형성한 후 각각의 차단막을 덮고 봉합하기로 하였으며, 각 군은 다음과 같다.

1군 : 대조군 - no membrane
2군 : PDS hydrophobic membrane
3군 : PDS/F127 hydrophilic membrane
4군 : PLGA hydrophobic membrane
5군 : PLGA/F127 hydrophilic membrane

각 군은 4주군과 8주군으로 다시 나누었으며 각 군당 3마리씩, 총 30마리를 실험하였다. 4주와 8주에 각각 희생시켜 두개골에 대한 조직절편을 제작 후 광학현미경을 통해 조직학적으로 관찰하였다.

III. 연구방법

1. 실험 방법

실험동물을 전신마취하기 위하여 Xylazine HCl (Rompun, 한국바이엘, 서울, 한국) 3mg/Kg와 Ketamine HCl (Ketalar, 유한양행, 서울, 한국) 2.5mg/Kg를 대퇴부에 근육주사하였다. 두개부를 제모하고 Betadine으로 소독하였으며 수술 시 지혈을 위하여 1:100,000 epinephrine이 함유된 2% xylocaine 1cc를 수술부 피하에 주사하였다. 백서 두개 정중부에 2cm의 수직 절개를 가한 후 피부와 골막을 박리, 거상하여 두개골을 노출시켰다. 뇌경막과 혈관을 주의하면서 생리식염수 주수하에서 치과용 bur를 사용하여 시상봉합부(sagittal suture)를 포함한 직경 8mm의 전층 골결손을 형성하였다. 충분히 지혈시킨 후, 각군별로 계획된 흡수성 차단막을 결손부보다 크게 잘라서 골 결손부를 덮고 4-0 흡수성 봉합사(Surgifit, 아이리, 부산, 한국)로 골막과 피부를 층별봉합하였다. 실험 후 감염방지를 위해서 gentamicin sulfate (Gentacin, 건일제약, 서울, 한국) 0.05 ml/Kg를 하루 한번씩 5일간 근육주사하였다.

2. 실험동물 희생

골 결손부 형성과 차단막 시술 후 4주와 8주째에 대조군과 실험군에 ether를 과도하게 흡입시켜 희생시켰다. 두개부에 수직절개 후 이전에 형성하였던 골 결손부의 경계를 포함하여 더 넓게 en bloc으로 골편을 채취하였다.

3. 조직학적 검사

채취한 골편은 표본제작을 위해 즉시 10% 중성 포르말린액에 고정하였다. 일정기간 고정 후, nitric acid (De-Cal Rapid, Pational Diagnosis, Atlanta, USA)에 담궈 4시간 탈회한 후, 골 결손부의 최대 장축과 수직되게 3mm 두께의 절편을 3군데 연속적으로 취하여 수세한 후 자동조직가공기 (Hypercenter XP, Shandon, UK)를 이용하여 조직처리하여 파라핀에 포매하였다. 파라핀 블록을 4-5㎛ 두께의 박절편으로 만들어 유리슬라이드에 올린후 68℃ 열판에 1시간 이상 방치시킨 후 염색을 시행하였다. Hematoxylin-Eosin 염색을 시행하여 광학현미경으로 신생골 형성 정도와 차단막의 잔존 정도를 각 군 간에 상대적으로 비교분석하였다.

IV. 결 과

1. 조직학적 소견

(1) 4주군

1군 : 결손부의 변연에 신생골의 형성은 거의 없고 대부분 섬유성 결합조직으로 차있었다 (Fig. 1).

2군 : 차단막이 잘 유지되고 있고 결손부 변연에 불규칙적인 신생골 형성이 보였으며, 차단막 하방에는 섬유성 결합조직과 다수의 염증세포 침윤이 관찰되었다 (Fig. 2).

3군 : 차단막이 남아있으며 결손부의 변연에 신생골과 미성숙골이 혼재되어 있었고 섬유성 결합조직과 염증세포 침윤이 관찰되었다 (Fig. 3).

4군 : 염증세포의 침윤과 차단막의 잔사가 관찰되었으며 결손부 변연에 신생골과 미성숙골이 혼재되어 숙주골과 결합하여 있었다 (Fig. 4).

5군 : 차단막이 대부분 잔존하고 있었고 결손부 변연에 신생골 형성과 다수의 조골세포들이 관찰되었으며 섬유성 결합조직과 염증세포들이 보였다 (Fig. 5).

(2) 8주군

1군 : 결손부 변연에 소량의 신생골 형성이 관찰되었으며 염증반응은 거의 없었다 (Fig. 6).

2군 : 차단막은 대부분 흡수되었으며 결손부 변연에 신생골 형성이 현저하였다. 염증반응은 거의 없었으며 치밀한 섬유성 결합조직이 보였다 (Fig. 7).

3군 : 차단막은 보이지 않으며 다수의 신생골 형성이 관찰되었고 염증반응은 4주군에 비해 많이 감소되어 있었다 (Fig. 8).

4군 : 차단막이 잔존하고 있었으며 차단막 하방으로 다수의 층판골이 형성되어 숙주골과 결합되어 있었다 (Fig. 9).

5군 : 차단막의 잔사가 남아있었으며, 불규칙한 형태의 신생골 형성이 관찰되고 염증세포의 침윤이 보였다 (Fig. 10).

2. 골형성 효과 비교

조직학적 관찰에 의한 신생골 형성양의 상대적 비교 결과는 4주군에서는 2군과 5군에서 우수하였으며, 8주군에서는 대조군인 1군을 제외한 2, 3, 4, 5군 모두에서 골 신생이 관찰되었지만 특히 4군에서 가장 우수한 골 형성을 보였다. 각각의 골형성에 대한 상대적 비교는 Table 1과 같다.

Table 1. Quantity of New Bone Formation

group	membrane	4 weeks	8 weeks
group 1	no membrane	-	+
group 2	PDS	++	++
group 3	PDS/F127	+	++
group 4	PLGA	+	+++
group 5	PLGA/F127	++	++

+++ = more dominantly present; ++ = dominantly present; + = present; - = not present

3. 차단막의 잔존율 비교

조직학적 관찰에서 흡수성 차단막이 남아있는 정도를 비교해 보면, 4주군에서는 차단막을 사용하지 않은 1군을 제외한 2, 3, 4, 5군 모두에서 차단막이 관찰되었는데, 특히 5군에서는 확연하게 많이 남아있었다. 8주군에서는 1, 3군에서는 관찰되지 않았고 2군에서는 소량이 남아 있었으며, 4, 5군에서는 비교적 많은 양이 남아있었다. 각각의 군에서 차단막이 남아 있는 정도의 상대적 비교는 Table 2와 같다.

Table 2. Remaining Rate of the Membranes

group	membrane	4 weeks	8 weeks
group 1	no membrane	-	-
group 2	PDS	++	+
group 3	PDS/F127	+	-
group 4	PLGA	++	++
group 5	PLGA/F127	+++	++

+++ = more dominantly present; ++ = dominantly present; + = present; - = not present

V. 고 찰

치조골의 결손이 있을 때 결손 부위를 가장 먼저 채우는 조직은 빠르게 증식하는 섬유성 결합조직으로서 이는 결손부로 골 조직이 자라들어 오는 것을 방해한다. Nyman 등[1]과 Gottlow 등[2]에 의해서 소개된 조직유도재생술(guided tissue regeneration: GTR)은 치주조직의 결손부에 차단막을 삽입하여 상피와 섬유성 결합조직의 결손부내로의 성장을 막아줌으로써 치아 주변에 치주인대에서 기원하는 세포들 - 치주인대, 치조골, 백악질 등이 재생되도록 하는 술식이다. 차단막은 처음 50년대 말과 60년대 초에 정형외과적으로 골 결손부를 치유하기 위해 실험적으로 사용되었으며[5,6] 그 이후에 구강악안면외과 영역에서 치조골 결손부를 재생하기 위해 사용되었지만[7] 이러한 초창기의 연구는 차단막의 사용을 본격적으로 이끌어내지는 못하였다. 골재생을 위한 GTR 적용의 개념은 처음 Dahlin에 의해 이루어졌는데 Dahlin 등[8]은 실험적으로 만든 치과 임플란트 주변의 골결손부에 GTR을 이용하여 새로운 골이 형성되는 것을 보고하였으며 막이 골 결손부에 적용될 때 물리적 장벽으로 작용하면서 골 형성에 방해가 되는 세포들이 골 결손부로 자라들어오지 못하도록 하는 동시에 골을 생성하는 세포들이 이주해 들어와 혈관 신생과 더불어 새로운 골이 형성되도록 하여 골 결손부를 채우게 된다고 언급하였다. 그 후 Buser 등[9]은 상악 치조골 결손부에 차단막을 이용하여 섬유성 조직이 들어가는 것을 방지하고 골조직을 재생시켰음을 보고하면서 이를 골유도재생술(guided bone regeneration: GBR)이라 칭하였다. 이러한 GBR의 성공을 위해서는 결손부의 주변을 완전히 차단하여 결손부와 연조직과의 접촉을 막기 위한 인위적인 차단막이 필요하며, 결손부 공간을 적절히 채워줌으로써 주변의 골이 자라들어 올 수 있는 공간을 유지해주기 위한 충전재 혹은 골이식재가 필요하다[8,9].

골유도재생술에서 물리적 장벽이 중요한 역할로 작용함에 따라서, 차단막은 필수적인 요소가 되었는데 Hardwick[10]은 생체에서 차단막의 역할을 수행하기 위해서는 생체적합성, 세포 차단성, 숙주조직에의 통합, 공간형성 기능, 임상적 조작 용이 등의 5가지 기준들을 만족시켜야 한다고 하였다.

현재 치과 임상에서 사용되는 차단막은 크게 흡수성 차단막과 비흡수성 차단막으로 나눌 수 있는데 그간 가장 널리 사용되었던 것은 비흡수성 차단막의 일종인 Expanded polytetrafluoroethylene(e-PTFE)로서 이는 생물학적으로 불활

성이며 생체친화성이 우수하다[4]. 이것의 미세구조는 정교하게 잘 짜여진 teflon knot의 층으로 이루어져 있으며 이 차단막은 생물학적으로 높은 안정성을 가지며 숙주 조직에 의한 파괴에 저항성을 갖고, 면역반응을 나타내지 않는 장점이 있다.

Buser 등[11]은 부분 무치악 환자의 측방 치조능 증강술에서 e-PTFE 차단막을 자가골 이식과 혼합사용하는 방법이 안정성이 있음을 보고하였으며 Simon 등[12]은 수직치조능 증강술에 GBR 술식을 적용하였고 e-PTFE 차단막을 사용하여 4mm까지 치조능을 증강시킬 수 있었다고 보고하였다. Tanow 등[13]은 상악동 거상술 시 e-PTFE를 사용한 증례와 사용하지 않은 증례에서 장기간의 임상적, 조직학적, 조직형태학적 연구를 시행하였고, 차단막의 사용이 vital bone 형성을 증가시키고 상악동 거상술의 성공에 효과가 있다고 보고하였다. 이외에도 많은 논문에서 골이식재와 함께 비흡수성 차단막을 사용한 골유도재생술로 수평적, 수직적 치조능 증대술을 시행하는 것이 효과가 있다고 보고하고 있으며[14,15,16], 이 차단막의 공간유지능력 향상을 위해 e-PTFE의 두 층안에 titanium framework를 개재시킨 titanium-reinforced e-PTFE 차단막과 자가골 이식술을 함께 사용하는 술식이 골유도재생술에 있어서 효과적인 방법이라고 보고하고 있다.

그러나 이러한 비흡수성 차단막은 골유도재생술 후 이를 제거하기 위한 이차적인 수술이 필요하다는 점과, 차단막이 노출되는 경향이 많으며 일단 노출되면 치태의 침착이 많아 감염의 가능성이 높은 단점이 있다. 따라서 현재에는 흡수성 차단막도 많이 사용되며 또한 이에 대한 연구결과들도 많이 보고되고 있다[17,18,19].

흡수성 차단막은 생체재료(natural biomaterial)와 합성 중합체(synthetic polymer)로 나뉘는데 흡수성 차단막은 치유 과정동안 조직액은 통과시키고, 골치유를 방해하는 세포들의 유입을 막아 혈병을 보호하여 골재생을 촉진하며 이차적인 차단막 제거를 위한 수술을 하지 않아도 되는 장점[20]을 가지지만 탐식작용과 같은 국소 염증 반응의 문제를 야기할 수 있고, 골 재생이 완성되는 시기와 차단막의 분해의 시기가 맞지 않는 단점이 있다[21].

생체재료로 대표적인 것에는 교원질(collagen) 차단막이 있다. 교원질(collagen)은 인체 단백질의 50%를 차지하며 흡수성 차단막의 제작을 위해 주로 사용되는 재료로서 주위의 결합조직과 혼합하여 6-8주내에 흡수를 보이며[22,23,24] I형 교원질로 이루어지며 효소에 의해 분해된다. 교원질 차단막에는 BioGide®,

BioMend®, Ossix® 등이 있으며 BioGide®는 돼지의 제 1, 3형 교원질로 만들어졌고 BioMend®는 소의 제 1형 교원질로, Ossix®는 소의 제 1형 교원질을 enzyme-cross-linking시켜 제작되었다.

합성 중합체는 poly(glycolic acid)(PGA), poly(lactic acid)(PLA), 이 둘의 공중합체인 poly(L-lactide-co-glycolic acid)(PLGA), 그리고 polydioxanone (PDS) 등이 있으며[25], 생체재료에 비해 합성 중합체가 우수한 점은 거의 무한대로 생산할 수 있다는 점과 필요에 따라 재료의 성질을 쉽게 변형시킬 수 있다는 점이다.

생물학적 환경 하에서 이들의 흡수 과정은 개개의 형태나 상호형태, isomer, crystal의 특성, 분자량에 의존하며, 수일에서 수년이 걸릴 수 있다. 흡수는 부산물로서 작은 용해성 oligomer를 유리하며 점차적으로 신장에서 제거된다[26].
이들 재료는 수술 시의 용도에 따라 여러 방법으로 제작되는데 고정용 기구[27], 조직을 포함 또는 배제하기 위한 장벽[28], porous solid graft[29], growth factor나 bone morphogenetic protein 또는 adhesion protein을 함유하기 위한 고체 또는 반고체의 carrier 등으로 제작될 수 있다[30]. 이것은 또한 세포외 성분을 대체하고 세포 부착과 분화를 증진시키고, 골 기질의 축적을 도모하기 위한 scaffold로서의 역할도 제공하며[30] 그 후 재생된 조직에 의해 대체되면서 점차적으로 흡수된다.

PDS는 조직반응이 없는 흡수성 봉합사로 널리 알려져 있다. 이는 ester 결합 때문에 흡수되는 성질을 가지고 있으며, 하나의 ester 사슬이 ether 사슬로 변화하여 물성이 좋아지게 된다. 이는 4주 후에 60%의 강도를 상실하며 8주 후에는 강도가 완전히 소실되고 완전히 흡수 되는데는 4-6개월이 걸린다[25]. 본 실험에서는 이식한지 8주째에 거의 소실되어 차단막으로서의 역할을 충분히 하지 못하였고 이로 인해 PLGA 차단막을 이식한 군보다 재생된 골의 양이 적었다.

PLA와 PGA는 지방성 화합물 중합체(aliphatic synthetic polymer)이며 lactic acid와 glycolic acid를 가수분해 시킴으로써 숙주에 의해 파괴되며 Krebs cycle에서 이산화탄소와 물로 대사된다. PLGA는 PLA/PGA의 공중합체(copolymer) 이며 많은 문헌에서 골 및 연골재생에 있어 효과적으로 생체 흡수를 보이며 재생을 유도하는 성공적인 기질이라고 제안한다[31,32]. 제작방법에 따라 smooth surface와 rough surface로 제작될 수 있으며 smooth surface는 osteoblast의 증식과 이주를 촉진하며[33], rough surface는 immobility를 도모하

고 광화된 기질이 생성되도록 돕는다[34].

Owen 등[35]은 PLGA 표면을 처리하여 실험한 in vitro 연구에서, rough PLGA surface는 smooth surface에 비해 상피세포의 부착과 이주, 증식을 차단하였으며 osteoblast 부착에 대한 연구에서는 groove 처리를 한 표면에서 osteoblast의 직접적인 이주가 촉진되고 경조직을 형성, 지지하는 효과가 좋다고 보고하였다. PLGA의 이러한 표면특성을 활용하여 두가지 다른 surface 특성을 갖도록 제작하여 골유도재생술과 같은 조직공학에 있어서 유용하게 사용할 수 있을 것이다.

본 연구에서 사용된 흡수성 차단막은 LA/GA molar ratio가 85:15이고 분자량 110,000인 PLGA 차단막과 여기에 Pluronic F-127을 결합시켜 친수성을 갖게 한 PLGA/F-127 차단막을 사용하였으며, 마찬가지로 분자량 2,000,000 이하의 PDS 차단막과 PDS/F-127 친수성 차단막을 사용하였다. 각각의 차단막은 Ethylene oxide 가스로 저온 멸균하여 사용하였다.

PLGA는 PGA와 PLA의 공중합체로서 glycolic acid와 lactic acid의 9:1 공중합체를 polyglactin 910이라 부르며 충분한 기계적 강도와 생체 적합성을 갖고 있다. 이는 그간 생체 흡수성 봉합사로 널리 이용되어 왔으며 woven mesh 형태로 제조되어 신경외과 영역에서 경막 대체물로 사용되어왔다[36]. 이는 Vicryl (Ethicon, Norderstedt, Germany)이라는 상품명으로도 유명하며 이를 이용한 치과용 흡수성 차단막의 임상연구로는, Simion 등[19]은 PLGA 차단막이 4-6주째에 흡수되기 시작해서 8개월째에 완전히 흡수된다고 하였으며 골재생 효과 또한 만족할만 하다고 하였으나, e-PTFE 차단막과 비교했을 때는 골 재생 효과가 떨어진다고 보고하였다. 다른 연구에서 Schultz 등[37]은 kintted Vicryl mesh는 약 100㎛의 섬유 용적과 200×500㎛의 섬유 사이 용적을 가지며 항원성이 없고 비염증성이며 조직에 위해작용이 없는 것으로 보고하였으며 14일 경에는 초기 강도의 약 80%를 유지하며 28일 경에는 17%의 초기 강도를 유지한다. 이후 약 40일 후에는 mesh가 분해, 흡수된다.

본 실험에서도 PLGA 차단막의 경우 4주와 8주째까지도 차단막이 많이 남아 있어서 골 결손부 내로 연조직의 함입을 막아주었고 결과적으로 PDS 차단막과 비교해 볼 때 재생된 골의 양도 더 많았다. 이와 같이 PLGA는 생체 흡수성 차단막으로서 골유도재생술에 효과적인 차단막으로 많이 사용되고 있지만 차단막의 물성을 약간 변화시켜 구강내에 잘 적용될 수 있도록 우리는 여기에

Pluronic F-127이라는 물질을 개재하여 실험에 사용하였다.

Pluronic F-127은 현재 약물전달에 대한 효능을 증가시키기 위한 목적으로 많은 실험연구가 이루어지고 있는 물질이다. Pluronic®은 poloxamer라고도 불리며 비이온화계의, 다양한 분자량을 갖는 surface-active triblock copolymer이다. Pluronic®의 구조는 polyethylene oxide(PEO)-polypropylene oxide(PPO)-PEO block copolymer 또는 polypropylene oxide(PPO)-polyethylene oxide(PEO)-polypropylene oxide(PPO) block copolymer로 구성 되어있다. Pluronic F-127은 분자량은 115,000 Da이고 약 70%의 ethylene과 30%의 propylene oxide로 구성되며 온도에 민감한 polymer로서 20%이상의 농도에서 온도에 의해 상이 gel로 가역적으로 변하는 성질을 보인다. PF-127은 실온(25℃)에서 viscous liquid로 존재하며 체온(37℃)에서는 semisolid 형태로 상전이 하게 되는데 높은 온도에서 gel을 형성하는 것은 온도가 상승할수록 polymer 입자가 점진적으로 탈수되어 chain이 얽히는 현상이 증가되기 때문이다[38]. 이러한 성질을 이용하여 낮은 온도에서는 liquid 이므로 주사를 놓을 수 있고, 한번 주사를 놓으면 고형화되어 지속적으로 약물을 유리하는 특성을 가지게 된다. PF 127은 자체적으로 친수성을 가지므로 구강내 환경에 적용하기 유리하며 치과적으로도 이용할 수 있을 것이다. 또한 이러한 가역적인 semisolid gel화는 약물을 지속적으로 주입할 수 있는 지지를 제공한다[39]. 이러한 성질을 이용하여 약물 유리, 도달에 대한 분야와 관련하여 PF 127의 주입에 대해 안과적 주입, 항문, 비경구, 경피적 주입 등 많은 연구가 이루어지고 있다[40,41,42,43]. Barichello 등[44]은 Pluronic F-127에 insulin을 첨가하여 쥐에 경피적 주입을 시행한 후 insulin의 유리에 대해 보고하였는데 다른 방법에 비해 지속적으로, 가장 오랫동안 hypoglycemic 효과를 보여 F-127이 약물전달에 유용한 물질임을 주장하였다. 다른 분야에서는 주입식 연골조직공학 기술의 효과를 알아보는 실험으로 액상지지체인 섬유소풀, 유동성 알긴산, Pluronic F-127을 연골세포와 결합시켜 쥐의 피하에 주입한 후의 성상과 연골형성에 대한 연구에서 PF-127이 향후 유용한 물질로 이용될 수 있다는 근거를 보였으며 현재 시판되는 의약품에도 계면활성제인 이 PF-127을 혼합하여 수용성을 높임으로써 생체 약물 투과도를 높인 제품들도 선보이고 있다.

본 연구에서는 PLGA에 PF-127을 결합시켜 차단막에 친수성을 갖도록 하여 체내 이식시 혈액에 젖으면서 골조직에 쉽게 밀착되어 조작성이 우수하도록 하

였지만 궁극적으로 추구하는 골재생에 있어서는 소수성 차단막이 더 우수하였다. 이는 여러 요인이 있을 수 있겠으나 차단막에 포함된 PF-127의 농도 및 질량, 골결손부에서의 세포와의 반응이나 차단막에 PF-127이 포함됨으로써 차단막의 물성 변화 가능성, 골이식재 등의 유무와 종류 등에 의해서도 차이가 존재할 수 있다고 여겨진다.

향후 PF-127을 이용한 차단막이 골유도재생술에 효과적으로 적용될 수 있도록 PF-127과 골 형성 단백질과 같은 골 형성 인자를 결합하는 등의 연구가 이루어진다면 생체 흡수성의 차단막의 기능을 하면서도 그 자체가 골형성을 도울 수 있는 좋은 차단막도 개발 가능할 것이며 향후 이 분야에 대한 더 많은 실험적, 통계학적 연구가 필요하리라 사료된다.

VI. 결 론

본 연구는 현재 개발 중에 있는 4종의 다른 흡수성 차단막이 골재생에 미치는 효과를 상대적으로 비교하여 가장 우수한 흡수성 차단막을 선별하기 위하여 시행하였다.

백서의 두개골에 인위적인 골 결손부를 만들고 1군은 아무런 차단막 없이 봉합하였으며, 2군은 PDS 차단막으로, 3군은 PDS/F127 차단막으로 골 결손부를 덮은 후 봉합하였으며, 4군은 PLGA 차단막을, 5군은 PLGA/F127 차단막을 사용하였다. 각 군당 6마리를 실험하였으며 이를 다시 4주군과 8주군으로 나누었다.

본 실험의 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 골 신생 정도에서 4군과 5군 즉, PLGA 차단막과 PLGA/F-127 차단막이 우수하였다.
2. 차단막의 잔존 정도도 4군과 5군에서 오랫동안 남아있어서 연조직의 침입을 방지하고 있었다.
3. F-127을 결합시킨 친수성 차단막은 조작성은 우수하지만 재생된 골의 양은 소수성 차단막 보다 적었다.

본 연구에서 얻을 수 있는 결과는 PDS 보다는 PLGA가 비교적 우수한 차단막임을 알 수 있었다. 향후에는 PLGA 또는 PLGA/F-127 차단막과 기존에 임상에서 상품화되어 사용되고 있는 흡수성 차단막과의 골신생 정도 및 차단막의 잔존 여부에 대한 실험적 비교분석이 필요하리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Nyman R, Magnusson M, Sennby L, Nyman S, Lundgren D. Membrane guided bone regeneration. Acta Orthop Scand 66: 169-173, 1995

2. Gottlow J, Nyman S, Karring T, Linde J. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. J Clin Periodontol 11: 494-503, 1984

3. 김관식, 조병욱, 이용찬. 가토 경골 골결손부에서 nylon membrane과 teflon membrane의 골유도 재생 효과. 대구외지 26: 146-153, 2000

4. Boyce B. Physical characteristics of ePTFE graft. Biologic & Sythetic Vascular Prostheses. Grune & Stratton, Philadelphia p 33, 1982

5. Avera SP, Stampley WA, McAllister BS. Histologic and clinical observations of resorbable and non resorbable barrier membranes used in maxillary sinus graft containment. Int J Oral Maxillofac Implnats 12(1):88-94, 1997

6. Bassett CA, Creighton DK, Stinchfield FE. Contributions of endosteum, cortex, and soft tissue to osteogenesis. Suvr Med 112:145-152, 1961

7. Becker W, Becker BE. Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets and for implant dehiscences: surgical techniques and case report. Int J Periodontics Restorative Dent 10(5):376-391, 1990

8. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. Plast Reconstr Surg 81: 672-676, 1988

9. Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Guided bone regeneration in implant dentistry. Quintessence. Chicago p33-241, 1994

10. Hardwick R, Scantlebury T, Sanchez R, Whitley N, Ambruster J.

Membrane design criteria for guided bone regeneration of the alveolar ridge. Berline: Quintessence: 101-136, 1994
11. Buser D, Dula K, Lang NP, Nyman S. Long-term stability of osseointegrated implants in bone regenerated with the membrane technique. 5-year results of prospective study with 12 implants. Clin Oral Implants Res 7(2):175-183, 1996
12. Simon M, Trisi P, Piattelli A. Vertical ridge augmentation using a membrane technique associated with osseointegrated imlants. Int J Periodontics Restoratice Dent 14(6):496-511, 1994
13. Tarnow DP, Wallace SS, Forum SJ, Rohrer MD, Cho SC. Histologic and clinical comparison of bilateral sinus floor elevations with and without barrier membrane placement in 12 patients: Part 3 of an ongoing prospective study. Int J Periodontics Restorative Dent 20(2):117-125, 2000
14. Nymann S, Lang NP, Buser D, Bragger U. Bone regeneration adjacent to titanium dental implants using guided tissue regeneration: a report of two cases. Int J Oral Maxillofac Implnats 5(1):9-14, 1990
15. Tinti C, Parma-Benfenati S, Polizzi G. Vertical ridge augmentation: what is the limit? Int J Periodontics Restorative Dent 16(3):220-229, 1996
16. Tinti C, Parma-Benfenati S. Vertical ridge augmentation: surgical protocol and retrospetive evaluation of 48 consecutively inserted implants. Int J Periodontics Restorative Dent 18(5):434-443, 1998
17. Boyne PJ. Regeneration of alveolar bone beneath cellulous acetate filter implants. J Dent Res 26: 569-576, 1969
18. Zitzmann NU, Naef R, Scharer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. Int J Oral Maxillofac Implants 12: 844-852, 1997
19. Simion M, Scarano A, Gionso L, Piattelli A. Guided bone

regeneration using resorbable and nonresorbable membranes: a comparative histologic study in humans. Int J Oral Maxillofac Implants 11: 735-742, 1996
20. Robert DM, Mark PM, Michael IS, Albert LBS. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. J Oral Maxillofac Surg 51:1004-1012, 1993
21. Gottlow J. Guided tissue regeneration using bioresorbable and non resorbable device: Initial healing and long-term results. J periodontol 64:1157-1165, 1993
22. Blumenthal NM. The use of collagen membranes to guide regeneration of new connective tissue attachment in dogs. J Periodontol 59:830, 1998
23. Blumenthal NM, Alves ME, Cadavid G. Controlled tissue expansion with guided bone regeneration. Pract Periodont Aesthetic Dent 3:43 1991
24. Pfeifer J, Van Swol RL, Ellinger R. Epithelial exclusion and tissue regeneration using a collagen membrane barrier in chronic periodontal defects: A histologic study. Int J Periodontol Res Dent 4:263, 1989
25. Hutmacher D, Hurzeler MB, Schliephake H. A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. Int J Oral Maxillofac Implants 11: 667-678, 1996
26. Vert M, Li S, Spendehauer G, Guerin P. Bioresorbability and biocompatibility of alipathic polyesters. J Master Sci Mater Med 3:432-436, 1992
27. Peltoniemi H, Ashammakhi N, Kontio R, Waris T, Salo A, Lindqvust C. The use od bioabsorbable fixation devices in craniomaxillofacial surgery. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 94:5-14, 2002

28. Crump TB, Rivera-Hidalgo F, Harrison JW, Williams FE, Guo IV. Influence of three membrane types on healing of bone defects. Oral Sur Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 82:365-374, 1996
29. Murakani N, Satio N, Takahashi J, Ota H, Horiuchi H, Nawata H. Repair of a proximal femoral bone defect in dogs using a porous surfaces prosthesis in combination with recombinant BMP-2 and syntheic polymer carrier. Biomaterials 24:2153-2159, 2003
30. Saio N, Okada T, Horiouci H, Ota H, Takahashi J,Muratami N. Bone morphogenetic protein-2 contained in polymer carriers, Bone 32:381-386, 2003
31. Hammerle CHF, Lang NP. Single stage surgery combining trnsmucosal implant placement with guided bone regeneration and bioresorbable materials. Clin Oral Impl Res 12:9-18, 2001
32. El-amin SF, Lu HH, Khan Y, Burems J, Mitchell J, Tuan RS. Extracellular matrix production by human osteoblasts cultured on biodegradable polymers applicable for tissue engineering. Biomaterials 24:1213-1221, 2003
33. Brunette DM, Khakbaznejad A, Takekawa M, Shimonishi M, Murakami H, Wieland M, Chehroudi B, Glass-Brudjinki J, Textor M. Improving bio-implant interface by controlling cell behavior using surface topography. In:Ellingsen JE, Lyngstdaas SP, eidtors. Bio-implant interface(improving biomaterials & tissue reaction) Boca Raton FL:CRC Press 2003
34. Martin JY, Schwartz Z, Hummert TW, Schraub DM, Simpson J, Lankford Jr J, Dean DD, Cochran DL, Boyan BD. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human ostetoblast-like cells(MG 63). J Biomed Mater Res 29:389-401, 1995
35. Owen GR, Jackson J, Chehrudi B, Burt H, Brunette DM. A PLGA

membrane controlling cell behaviour for promoting tissue regeneration. Biomaterials 26:7447-7456, 2005
36. Maurer P, MacDonald J. Vicryl(Polyglactin 910) mesh as a dural substitute. J Neurosurg 63:448, 1985
37. Schultz AJ, Gager AH. Guided tissue regeneration using an absorbable membrane(polyglactin 910) and osseous grafting. Int J Periodontics Restorative Dent 10:8, 1990
38. Guzman M, Garcia FF, Molpeceres J, Aberturas MR. Polyoxyethylene-polyoxypropylene block copolymer gels as sustained release vehicles for subcutaneous drug administration. Int J Pharm 80:119-127, 1992
39. Wang Y, Gao JQ, Li F, Ri SH, Liang WQ. Triblock copolymer Pluronic® F127 sustains insulin release and reduces initial burst of microsheres-in vitro and in vivo study. Colloid Polym Sci 285:233-238, 2006
40. Miller SC, Donovan MD, Effect of poloxamer 407 gels on the miotic activity of pilocarpine nitrate in rabbits. Int J Pharm 12:147-152, 1982
41. Miyazaki S, Yokouchi C, Nakamura T, Hashiguchi N, Hou WM, Takada M. Pluronic f-127 gels as a novel vehicle for rectal administration on indomethacin. Chem Pharm Bull. 34:1801-1808, 1986
42. Morikawa K, Okada F, Hosokawa M, Kobayashi H. Enhancement of therapeutic effect of recombinant interleukin-2 on a transplantable rat fibrosarcoma by use of a sustained release vehicle, Pluronic gel. Cancer Res 47:37-41, 1987
43. Miyazaki S, Tobiyama T, Takada M, Attwood D. Percutaneous absorption of indomethacin from Pluronic F-127 gels in rats. J Pharm Pharmacol 47:455-457, 1995
44. Barichello JM, Morishita M, Takayama K, Nagaji T. Absorption of

insulin from Pluronic F-127 gels following subcutaneous administration in rats Int J Pharm 184:189-198, 1999

사진 부도 설명

Figure 1. Fibrous connective tissue at the defect margin is found.
(group 1 at 4 weeks, H-E stain, ×40)

Figure 2. A small amount of new bone adjacent to the defect margin and the remained PDS membrane is found. * = newly formed bone, m = remained membrane
(group 2 at 4 weeks, H-E stain, ×40)

Figure 3. A small amount of new bone and dense fibrous tissue under the membrane is found. * = newly formed bone.
(group 3 at 4 weeks, H-E stain, ×40)

Figure 4. New bone formation and fusion with host bone are found.
* = newly formed bone.
(group 4 at 4 weeks, H-E stain, ×100)

Figure 5. New bone formation under the membrane is found and the membrane is almost not resorbed. * = newly formed bone, m = remained membrane
(group 5 at 4 weeks, H-E stain, ×40)

Figure 6. A small amount of new bone formation at the defect margin is found and no inflammatory reaction was observed. * = newly formed bone.
(group 1 at 8 weeks, H-E stain, ×100)

Figure 7. New bone formation with dense fibrous connective tissue

is found and the membrane was almost resorbed. * = newly formed bone
(group 2 at 8 weeks, H-E stain, ×40)

Figure 8. A moderate amount of new bone formation is found and no membrane remnants is observed. * = newly formed bone.
(group 3 at 8 weeks, H-E stain, ×40)

Figure 9. Membranous bony tissue at the defect margin is found and the membrane is partially resorbed. * = newly formed bone , m = remained membrane
(group 4 at 8 weeks, H-E stain, ×40)

Figure 10. Irregular new bone formation and remaining remnants of membrane were found. * = newly formed bone , m = remained membrane
(group 5 at 8 weeks, H-E stain, ×40)

사진 부도

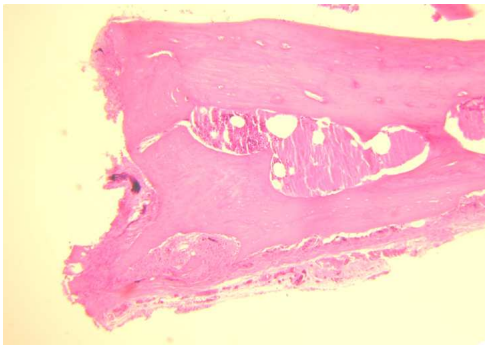

Fig. 1

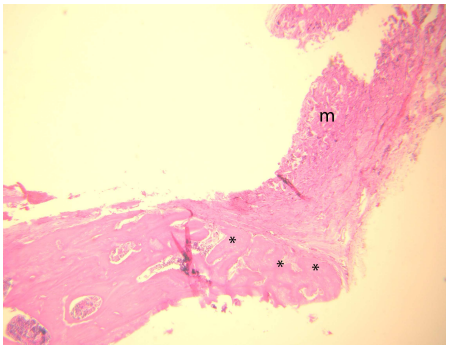

Fig. 2

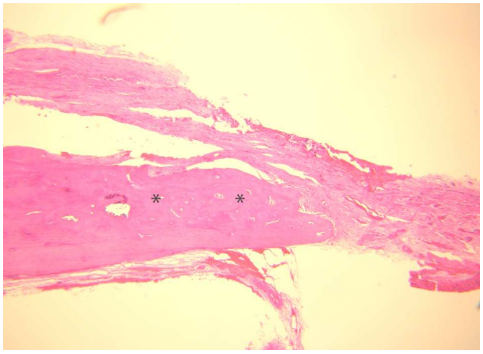

Fig. 3

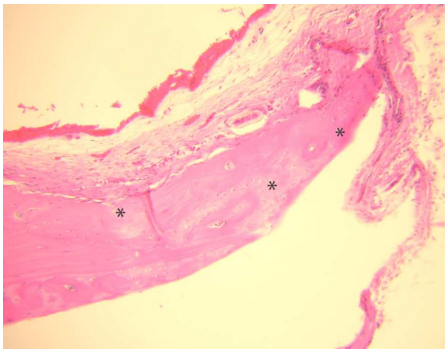

Fig. 4

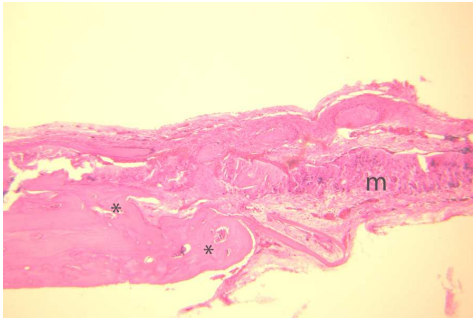

Fig. 5

사진 부도

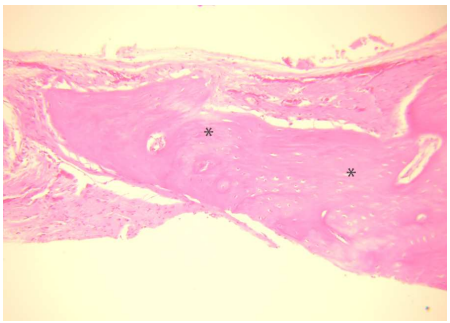

Fig. 6

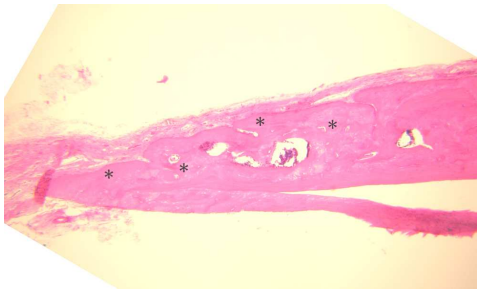

Fig. 7

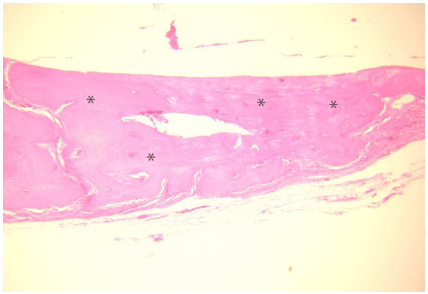

Fig. 8

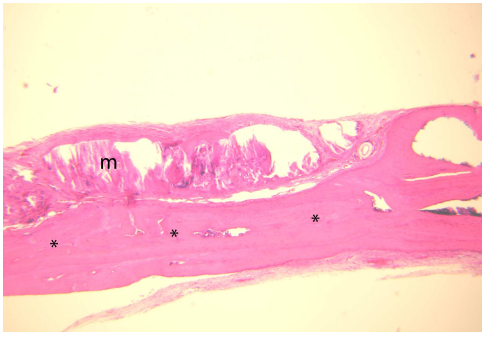

Fig. 9

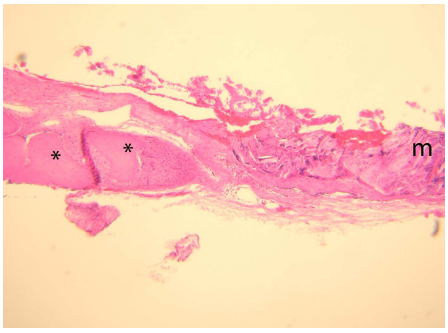

Fig. 10

저작물 이용 허락서

학 과	치의학과	학 번	20057623	과 정	(석사), 박사
성 명	한글: 태일성	한문 : 太日成		영문 : Tae, Il-Sung	
주 소	경남 마산시 월남동 4가 11-2번지				
연락처	011-848-8822	E-MAIL	is406@hanmail.net		
논문제목	한글 : 국산 흡수성 차단막의 개발을 위한 실험적 연구				
	영어 : An Experimental Study for Developing Bioresorbable Membranes				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(◯) 반대( )

2006년 12월 4일

저작자: 태 일 성 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하