

골 재생을 위한 생물학적 유도막

홍종락^{1,2}, 강나라¹, 정필훈¹

¹서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

²삼성서울병원 치과

Biologic Membrane for Guided Bone Regeneration

Jong-Rak Hong^{1,2}, Nara Kang¹, Pill-Hoon Choung¹

¹Department of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Seoul National University

²Department of Dentistry, Samsung Medical Center

교신저자 : 정필훈

110-768, 서울특별시 종로구 연건동 28 서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Pill-Hoon Choung

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

#28, Yeongun-dong, Jongro-gu, Seoul, 110-768, South Korea

Tel. +82-2-760-3477, Fax +82-2-745-3477

※ 이 연구는 한국 보건복지부 중점공동연구지원사업(00-PJ1-PG1-CH11-0004)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

Abstract

Biologic Membrane for Guided Bone Regeneration

Jong-Rak Hong, Nara kang, Pill-Hoon Choung

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

The purpose of this study was to evaluate the stability and efficacy of biologic membrane made of freeze-dried cartilage as a barrier to facilitate guided bone regeneration in experimental non-healing bone defects in the rat mandible. Nine adult Sprague-Dawley rats (400-500g) were used in experiment. 5.0mm in diameter were created on the mandibular angle area by means of slow-speed trephine drill. In microscopic examination, dynamic immature bone forming at 2 weeks and its calcification at 4 weeks were observed. The membrane made of lyophilized cartilage taken from human costal cartilage seems to be very effective for guided bone regeneration as a biologic membrane and the scaffold for attachment of cells or local drug delivery system of growth factor, which may meet the ideal requirement of a barrier membrane and graft materials.

Key Words; Freeze-dried cartilage, Guided bone regeneration

I. 서 론

특정 조직의 치유 증진을 위한 해부학적 차폐와 조직의 치유방향을 유도하기 위한 물리적인 차폐는 1950년대부터 재건외과수술분야와 신경재생분야에서 사용되어져 왔다. 1956년 Campbell 및 Bassett¹⁾등과 1959년 Hurley²⁾등이 microporous cellulose acetate filter를 사용하여 신경과 건의 재생을 임상적으로 처음 시도하였으며, 1957년 Murray³⁾는 혈병 및 조골세포의 보존이 골재생과 밀접한 관련이 있음을 주장하여, 골재생에서 차폐막의 연구를 진행시켰다. 그후 1964년 Boyne⁴⁾ 등에 의해 약골에서 골재생유도술이 처음으로 시도되었고, Nyman과 Gottlow, Dahlin⁵⁾ 등에 의해 조직유도 재생술이 치주 임상분야에서 임상적으로 활발히 연구되어 왔다.

Scantlebury⁶⁾는 조직유도재생을 위한 차폐막의 구비조건으로 조직결합, 세포분리, 임상적 유용성, 공간의 확보, 조직접합성을 보고하였는데, 기존의 차폐막은 ①일정시간이 지난 후 제거를 위한 2차 수술의 필요성, ②결손부의 형태에 따라 막의 변형을 방지하는 기계적 지지장치 설치의 번거러움, ③막 자체의 골유도능의 결여, ④혹은 골전도능의 결여, ⑤충분한 기간에 걸친 구조의 보존과 공간확보라는 과제를 아직 완전히 해결하지 못한 상태이다. 1993년 정⁷⁾에 의해 제작된 동결건조연골이 골대체물로 이용가능하다는 그동안의 임상 보고를 고려하여 이를 얇은 막으로 이용하면 기존 차폐막이

갖는 모든 문제점을 해결할 수 있을 것이란 가정 하에, 인체의 동결건조연골을 골유도재생막으로 이
용하여 백서 하악의 실험용 골결손부에서 골 유도 재생을 용이케 하는 차폐막으로서 동결건조 연골
차폐막의 안정성과 그 효용성에 대해 평가하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 실험동물

생후 3~4개월된 체중 400~500g의 백서(Sprague-Dawley) 9 마리를 실험동물로 하였다. 실험전 2주간의 적응기간을 갖게 하고, 밤낮의 주기를 12 시간으로 조절하였으며, 실험기간 동안 일정 고품 사료를 충분히 공급하였다.

2. 동결건조연골 유도막의 제작

인체의 늑연골을 채취하여 -73°C 로 동결시킨후 72시간 동결건조 하였다. 그후, eagle pack으로 포장하고 EO gas로 멸균하여, 실온에서 보관하였다. 이용 직전에 연골 유도막을 수확시키고 dermatome과 mess를 이용하여 지름 8~10mm, 두께 0.6~0.9mm의 막으로 형성하였다 (Fig. 1).

3. 동물수술

백서를 ketamin(케타라[®], 유한양행) 10 mg/kg과 xylazine(Rompun[®], 한국마이엘) 2 mg/kg를 복강내 주사하여 마취하였다. 하악 및 경부를 제모하고 베타딘으로 소독한 다음, 소량의 2% lidocaine

HCl(1:100,000 epinephrine)로 침윤마취 하였다. 하악 정중부에서 경부의 중앙까지 정중부를 따라 절개하고, 조직 및 골막을 박리 및 견인하여 좌우 양측 하악골 우각부를 노출시켰다. 양측 하악골 우각부에 trephine bur(3i Implant Innovations Inc., U.S.A.)를 사용하여 주변 조직에 손상을 주지 않으면서 직경 5mm의 원형 결손부를 형성하였다. 그 후 실험측에는 미리 준비하여둔 동결건조 연골막을 협측과 설측 양측에 위치시키고, 5-0 Polyglactin 910(vicryl[®], Ethicon Co., U.K)로 연골막을 악골에 고정하였다. 대조측에는 아무런 차폐막 없이 골막과 근육을 채워치시킨 후 봉합하였다. 수술후 감염 방지를 위해 ampicillin(엠셀린[®], 종근당) 3일간 근육 주사하였다. (40mg/kg)

4. 조직시편의 제작

실험 동물을 수술후 2, 4, 6, 8주 쯤에 10% 중성 포르말린 완충용액으로 관류고정후, 하악골만을 채취하여 24시간 동안 다시 동일한 용액으로 고정하고, 통법에 따라 탈수시킨후, 비탈회 표본³⁾ 제작을 위해 레진 (Technovit[®]7200, Exakt-Apparatebau GmbH, Germany) 을 이용하여 포매하여 중합시켜 블록을 얻었다. 블록을 적당한 부위까지 연마한 다음 그 반대편도 처음 면과 평행하게 연마한 후 플라스틱 슬라이드에 접착시키고 압력을 가한 상태로 24시간 유지하였다. 이렇게 연마한 블록이 붙은

슬라이드를 Exakt-cutting grinding system(Exakt- Apparatebau GmbH, Germany)으로 연마하여 슬라이드 면과 블록의 반대 면이 완전히 평행이 되게 하였다. 또 다른 플라스틱 슬라이드를 Exakt precision adhesive system을 이용하여 블록이 붙은 슬라이드와 평행하게 시아노아크릴레이트로 고정하여 블록을 사이에 두고 고정된 평행한 두 개의 슬라이드를 얻었다. 이렇게 고정된 슬라이드를 먼저 골결손부를 중심으로 협설 축으로 시편 두께가 2~3mm되게 Exakt-cutting grinding system을 이용하여 절단하였다. Exakt-micro grinding system에 800, 1200, 2500, 4000 사포를 차례로 이용하여 연마하고 최종적으로 두께 20 μ m의 매끈하고 얇은 표본이 얻어지게 하였다. 연마 후 toluidine blue와 von Kossa로 염색 후 광학현미경(Olympus BH-2, Olympus Co., Japan)으로 관찰하였다

III. 결 과

1. 육안적 소견

수술 후 2, 4, 6, 8주 제에 동물을 희생하고, 조직을 박리 후 차폐막과 인접골을 관찰하였다. 모든 차폐막은 인접골에 형태적으로 안정되고 매우 단단히 부착되어 있었고, 골과 차폐막 사이에는 섬유성 결합과 골성 결합의 소견을 보였으며, 차폐막은 술전 보다 매우 단단하였다. 2주 소견에서 실험측의 골 결손부는 얇은 막에 의해 연결되어 있었고, 대조측은 결손부 변연에 별다른 변화가 없었다 (Fig. 2). 4, 6, 8주의 동결건조 연골막으로 차폐된 실험측은 골 결손부가 비교적 단단한 골성조직으로 대체되었다 (Fig. 3, 4). 2, 4주 대조측과는 달리 6, 8주 대조군은 연조직으로 골결손부가 채워져 있었으나, 골결손부 변연의 육안적인 크기 변화는 없었다. 4주 대조측은 결손부 변연의 골흡수와 결손부 크기의 증가로 인해 약골이 골절되어 있었다.

2. 조직학적 소견

2주 실험측에서는 결손부 변연으로부터 활발한 조골세포의 활성화와 골주상의 미성숙골이 관찰되었고, 특별한 염증성 소견이나 이물반응은 없었다. 2주 대조군에서는 결손부 변연의 변화는 관찰되지

않았다 (Fig. 5, 6). 4주 실험군에서는 일부 연골의 형성을 보이기도 하였고, 미성숙골의 석회화가 진행되어 있었다 (Fig. 7).

6주 실험군에서는 4주보다 골결손부 중심부로 보다 많은 골형성과 성장이 관찰되었고, 신생골의 일부분에 작은 골수의 형성을 보였다(Fig. 8). 8주 실험군에서는 결손부 전체가 잘 형성된 골수와 풍부한 소성 결체조직성 골수를 지닌 성숙골로 치유되었다 (Fig. 10, 11). 4주 및 6주, 8주 대조군에서 골결손부 변연은 점점 치밀 골판으로 변화하였고, 골결손부 내부는 신생골의 형성 없이, 섬유성 결합조직으로 대체되었다(Fig. 9, 12., Table 1).

IV. 고 찰

각각의 세포 이동 속도의 차이를 응용하여 손상된 부위에 바람직하지 않는 세포의 이주를 막고, 바람직한 세포의 군집을 형성하도록 하는 조직유도 재생술(guided tissue regeneration: GTR)과 손상 부위에 연조직과 다른세포의 성장을 방지하고 골형성을 촉진하기 위한 독립된 공간을 제공하는 기술을 정의하는 골유도 재생술(guided bone regeneration)은 골촉진을 위해 막을 사용한다하여 골촉진 막이용술(osteopromotive membrane technique)이라고도 불린다.^{5,9)} 결손된 골조직의 재생을 위해 차폐막을 이용한 골유도재생술(guided bone regeneration)은 창상 치유시 골 결손부 주변의 세포가 결손부에 재집결시 이주 속도에 차이가 있다는 가설을 이용하여, 결손부 상방에 생체 친화성 차폐막을 위치 시켜 결체조직의 조기침투를 물리적인 막으로 방지하고, 주변 골과 골수로부터 천천히 이주하는 골형성능을 가진 간엽세포가 결손내부에 선택적으로 재집결 하도록하여 골재생을 유도하는 술식이다. 기존의 합성 골 유도 재생막 재료로는 cellulose acetate filter, perforated Teflon[®] mantle leaf, expanded-polytetrafluoroethylene(e-PTFE), Vicryl[®] mesh(polyglactin 910), synthetic glycolide, lactide copolymer등이, 그리고 자연산 물질로 bovine collagen, lyophilized dura matter 등이 사용되어 왔다. 이들 차폐막은 크게 비흡수성(nondegradable)과 흡수성(degradable)의 두가지로 분류하고

있다. GTR을 위해 가장 널리 쓰여온 것이 e-PTFE⁹⁻¹³⁾이며, 그외의 비흡수성 재료로 silicone^{14,15)}, n-PTFE^{16,17)} 등을 들 수 있고, 흡수성재료로는 dura mater¹⁸⁻²¹⁾, polylactic acid²²⁻²⁴⁾, collagen^{25,26)}, polyglactin^{27,28)} 등이 쓰이고 있다. 흡수성인 재료의 장점은 이차적인 제거가 필요하지 않는다는 것이 우선되나, 공간을 유지하는 경도가 부족하고 흡수되는 과정을 통해 약화되기 때문에 골결손부의 재생을 위해 공간을 유지해주어야 하는 경우에는 유용성이 떨어진다. 비흡수성 차폐막이 흡수성 차폐막보다 좀더 예측 가능한 예후와 장기적인 합병증이 적고 임상적 사용법이 보다 간단하다는 이유로 더 많이 선호되고 있지만, 일정시간이 지난 후 제거를 위한 2차 수술의 필요성, 결손부 형태에 따라 막의 변형을 방지하는 기계적 지지장치 설치의 번거로움, 막 자체의 골유도능, 혹은 골전도능의 결여, 주변골과 조직결합성의 부족, 형태유지 및 공간유지의 문제등으로, 흡수성 차폐막에 대한 연구가 진행중이다.¹⁸⁻³¹⁾ e-PTFE는 구강내 미생물의 번식 및 흡착이 용이하고 빈발하며, 치조골막하 매식 실험에서 상부 치조골 피사를 보이는 등 생체 적합성에 대한 문제가 제기되고 있다.^{32,33)} e-PTFE 차단막이 초기 치유과정 중에서 판막의 치은과 골 혈관과의 문합을 방해함으로써 치은퇴축을 자주 야기하며, 치은퇴축에 의한 차단막의 노출은 감염의 기회를 증가시키고, 치태조절을 곤란하게 한다.^{14,29,34)} 이러한 e-PTFE 차폐막의 문제점은 판막의 치은, 골, 치주인대와의 혈관문합을 용이하

게 하여 치은퇴축을 최소로 하는 흡수성 차폐막에 대한 필요성이 제기되었다. 흡수성 차폐막에서 고려해야 할 첫째는 흡수성 차단막의 제거시기로서, 치주조직재생을 이루는데 있어서 중요한 4-5주의 초기 치유과정 중 흡수되지 않고 그 자리에서 유지되어야 차폐막으로서의 기능을 할 수 있다는 점과 둘째는 흡수과정에서 일어날 수 있는 국소적 염증반응이 치유과정을 방해하지 말아야 한다는 점이다.^{10,35)} 흡수성 차폐막중 가장 먼저 개발된 collagen membrane은 mesenchymal cell의 부착성을 증가시키고, 비교적 우수한 생체 접합성을 가지고 있으나, 임상적인 사용에 제한점과 항원성 및 조기 흡수 양상의 단점이 있다. collagen membrane 중 임상에서 널리 쓰이는 dura mater의 경우 창상치유와 혈액응고의 기존 collagen membrane의 장점과 인장강도의 개선 임상적 조작 용이성, 생체 흡수시 최소한의 염증반응 등으로 연구가 진행되고 있다.³⁵⁻³⁷⁾ Yukna²⁰⁾ 등은 사람의 하악 협측 2급 분지부 병소 치치시 e-PTFE 차폐막과 dura mater 차폐막이 거의 비슷한 임상결과를 얻었다고 보고하였고, Fontana²¹⁾ 등은 implant 매식시의 골결손부에 dura mater 차폐막 사용할 때, e-PTFE 차폐막을 사용시 자주 나타나는 합병증인 연조직 열개 같은 현상이 거의 없이 완전한 골재생이 이루어졌다고 보고하였다. 그러나, Garret¹⁹⁾ 등은 dura mater가 조기흡수와 신생육아조직 부착의 방해로 인해 하악 2급 분지부 병소와 골내낭 치료에 부적당하다고 하였는데 이는 dura mater의 흡수가 염증세포나 상피세

포, 치태의 collagenase 에 의해 일어나는데 흡수시기가 불규칙하며 조기흡수등으로 충분한 강도 유지에 문제가 있다고 하였다. 최근에는 polylactide/polyglactide copolymer의 사용이 증가 추세이지만, 공간의 유지와 강도 증가를 위해 중합체의 농도를 증가시켜 발생하는 중간 대사산물의 세포독성, 세균감염 및 염증은 임상적 사용에 있어 비흡수성재료를 더욱 선호하게 만드는 원인이 되고 있다.^{9,24)} 흡수성 차폐막이 충분한 기간에 걸친 구조의 보존과 공간 확보라는 과제를 아직 완전히 해결하지 못한 상태이며, 현재까지 동결건조연골을 차폐막으로서 이용한 연구가 없는데, 이에 본 연구에서는 인체의 동결건조연골을 골유도 재생막으로 이용하였다. 이 경우 기존의 collagen membrane들이 갖는 장점을 지니고 충분한 공간유지라는 문제점을 해결하였으며, e-PTFE 또는 PLLA-PGA copolymer에 비해 생체 적합성 재료라는 점, 2차 수술의 필요성이 없으며 결손부 형태에 따른 막의 모형 조각 가능, 막의 변형을 방지하는 기계장치의 번거러움 방지 및 막자체의 골전도능 등의 장점이 있고, 이 연골 막 자체가 골화되는 성질이 있어 생체적합성이 있는 골유도재생 차폐막으로서 동물실험에서 좋은 효과를 보였다.

악안면영역에서 동결건조 연골은 여러 가지 재건의 목적으로 사용되고 있으며, 이에 대한 효과 역시 여러 가지 다른 방법으로 판단되어 왔다. O'Connor와 Piece³⁸⁾ (1938)는 merthiolate 용액에서 냉

동보관한 동종연골이 6년 후에도 흡수됨이 없이 이식시 좋은 결과를 나타냈다고 보고하였다. 이러한 소견은 Straith와 Slaughter³⁹⁾(1941)에 의해서도 확인되었는데, 그는 merthiolate에서 보존된 동종연골을 100명의 환자에서 사용하여, 6%에서 감염, 5%에서만 이식체의 부분 혹은 전부흡수를 나타내었다고 한다. Blackstone와 Parker⁴⁰⁾는 동결건조연골을 견치 치조골증강술에 사용하여 130일이 지난 후에 골화되는 소견을 관찰고, Boyne and Cooksey⁴¹⁾는 치조골증강술에 동결건조연골을 사용한 후, 1-4년 동안 계속적인 관찰을 통해 좋은결과를 얻었다고 보고하였다. Rassumowska⁴²⁾는 치주병변부에 동결건조연골을 이식하여 이식물이 흡수후, 골로 대체됨을 보고하였다. Sailer⁴³⁾는 122명의 환자에서 동결건조 연골 이식체를 식립하여 1년에서 5년 사이의 관찰을 통해 83%의 환자에서 좋은 결과를 얻었다고 보고하였다. 그는 10-20%의 흡수정도를 관찰하였고, 2.6%에서 감염소견을 얻었다. 265개의 식립체 중 6개만이 석회화하여 통상적인 방사선사진상에서 관찰할 수 있었고, 석회화하지 않은 식립체는 건조방사선사진(Xeroradiograph)으로 식별할 수 있었다고 한다. 또한 이식 후 3개월에서 14개월의 동결건조 연골중 7 증례를 조직학적으로 관찰하여 다소의 교원섬유와 미세한 파립상의 석회화 소견을 보였고, 조직거부반응이나 결합조직피막, 섬유성조직의 침입은 없다고 보고하였다. 1983년 Sailer⁴⁴⁾는 동물실험과 임상적인 연구를 통해 동물모델에서는 240일후 부분적인 골화를 관찰하였고,

임상증례에서 이부에 사용한 동결건조연골이식에서도 골화함을 확인하였다. 1992년 Davis⁴⁵⁾는 Le Fort I 골절단술, 하악지시상골절단술 및 이부성형술을 시행하는 환자에서 이부의 증강을 목적으로 동결건조연골을 사용하여 술 후 12개월 후에 명확한 골화소견을 방사선사진상에서 얻었다. 정등은⁷⁾ 사람의 동결건조연골을 연구하여 동종연골이 골대체물로 이용 가능하다고 하였다. 정⁴⁷⁾과 남⁴⁸⁾ 등은 동종연골을 골결손부에 이식시 골과 접촉 부위는 신생골이 있었고 석회화 현상이 두드러져 골화되었다고 보고하였다. 이러한 동종연골의 골화되는 현상은 약 1년 정도 지나면 방사선상에 보이는데 모든 연골이 골화되는 것은 아니고 주위 뼈로 둘러싸여 뼈와 접촉하는 결손 부위에서 골화되는 것을 관찰할 수 있었다. 동종연골 주위가 뼈로 둘러싸이지 않는 불연속성 골결손부에서는 골화현상을 관찰하지 못했다. 그러나 비성형수술시 코뼈 위에 연결하여 코를 높인 경우 골화되는 경우가 관찰되기도 하였다. 즉 동종연골이 항상 골화되는 것은 아니고 최소한 2면 혹은 3면이 뼈로 둘러싸인 낭종성 골결손부에서는 골화되는 것을 관찰할 수 있었다. 빠르면 이식 후 9개월부터, 일반적으로는 약 1년 정도면 연골의 특성이 아닌 딱딱한 석회화 현상을 관찰할 수 있었다. 이는 골막하로 동종연골이 이식되는 경우가 피하로 이식되는 경우보다 골화가 빠른 것으로 추정된다. 같은 방법으로 제작한 동종연골이 이처럼 항상 골화되는 것이 아니기 때문에 골화기전을 단언하여 규명하기는 어렵지만 다음과

같은 기전으로 추측할 수 있을 것이다. 골화기전은 골막과 수혜부의 골 사이에 동종연골을 이식하였을 때 연골 주위와 골막과 수혜부 골의 사이 공간에 새로운 골이 형성되는 것을 관찰할 수 있었고 동종연골의 골화기전은 두가지 형태로 생각할 수 있다. 하나는 골막하 연골 주위에 있는 골양조직 (osteoid tissue)에 의해 골화되는 과정과 또 하나는 골막하와 피하 이식 시에 일어나는 석회화 현상이다. 조직학적으로 골막하에 이식시 수혜골과 접촉 부위는 서서히 골대체화가 일어나고 연골과 수혜골 사이의 공간은 신생골 재생에 의해 연결되는 것을 관찰할 수 있었다. 이렇게 석회화한 연골은 아주 서서히 결 부위에 흡수가 일어날 수 있고 이는 골막하에서의 특이 그리하며 이런 조건이 아닌 불리한 경우에는 많은 흡수가 일어나기도 하지만, 석회화되고 주위 골과 접촉해 있는 경우는 흡수를 관찰하기 힘들었다. 이상의 연구들을 요약하면 동결건조 연골은 이식시, 부작용이 적고 흡수율이 낮으며, 골대체물로서 골화되거나 석회화된다. 본 연구에서도 차폐막 제거시 주변골과 단단히 결합하고, 이식시 보다 연골막이 더욱 더 단단해져 있어, 골재생을 유도 한 후, 막 자체의 골재건 효과를 기대할 수 있으리라 사료되었다.

동결건조연골을 골유도재생을 위한 차폐막으로 사용할 경우 생체적합성과, 세포분리, 공간유지에 있어 기존의 차폐막보다 우수하며, 연골자체내의 교원섬유에 의한 조골세포의 화학주성 및 부착제

공 뿐만 아니라, 골재생 및 석회화가 진행되는 동안 흡수되지 않고, 오히려 석회화 또는 골화되는 등
차폐막 자체가 골대체물의 역할을 수행한다. 또한 연골의 수화는 친수성 약물의 loading을 가능케 하
므로, 장기간 서방성 약물 방출의 실현으로 항생제를 시적시 세균의 부착 감소와 함께 막자체의 세
균번식을 방지 하고, PDGF-BB 또는 IGF 등의 성장인자 등을 시적함으로써 치주영역에서 조섬유세
포의 치주인대생성을 촉진하고, 치조골 재생기간을 단축시킬수 있으리라 생각되어 본 논문의 실험결
과, 임상적으로도 사용이 추천된다 하겠다.

V. 결 론

백서의 악골에 5 mm 원형 골결손부를 형성하고 동결건조연골막으로 협측과 설측을 피개하여 골
유도 재생효과를 보고자한 실험측과 피개하지않은 대조측의 2,4,6,8 주후의 실험결과는 다음과 같다.

1. 육안적 소견에서 대조군측은 실험 8주에도 원형결손부가 남아있고 결체조직으로 대체 되어 있으
나 실험군측은 동결건조연골막이 형태변형이나 흡수소견 없이 결손부에 잘부착되어 있고, 동결건조
연골막 사이의 결손부는 골재생으로 치유되었음이 관찰되었다.
2. 현미경적 소견으로는 실험측 결손부는 실험 2주부터 활발한 미성숙 골조직 형성을 나타내며, 실

험 4주군 부터 점점 석회화가 진행되고, 8주에는 이물반응이나 염증소견 없이 성숙골로 치유됨이 관찰되었다. 대조군은 8주까지 골재생 없이 섬유성결체조직으로 치유되었다.

3. 인체 늑연골을 채취하여 동결건조과정을 거쳐 제작한 동결건조연골막은, 골 결손부 재생에 있어서 2차 제거 수술이 필요없으며 물리적 지지력을 지니고, 그 자체가 석회화 될 수 있는 효율적인 생물학적 골유도재생막으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. Campbell JB, Bassett CAL: The surgical application of monomolecular filters(Milipore) to bridge gaps in peripheral nerves and to prevent neuroma formation. Surg Forum 1956;7:570-572.
2. Hurley AL, Stinchfield FE, Bassett CAL, Lyon WH : The role of soft tissues in osteogenesis. J Bone Joint Surg (Am) 1959;41A:1243-1254.
3. Murray G, Holden R, Roachlau W: Experimental and clinical study of new growth of bone in a cavity. Am J Surg 1957;93:385-387.
4. Boyne PJ: Regeneration of alveolar bone beneath cellulose acetate filter implants. J Dent Res 1964;43:827.
5. Dahlin C: Scientific background of guided bone regeneration. In : Buser D, Dhalin C, Schenk RK, eds. Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. Chicago, Quintessense Publishing Co., pp 31-48, 1994
6. Scantlebury TV: 1982-1992: A decade of technology development for guided tissue regeneration. J Periodontol 1993;64:1129-1137.
7. Choung PH, Lee W, Nam IW: Allogenic lyophilized cartilage grafts for craniomaxillofacial reconstruction. Proceedins of the 4th International Congress of Oral Cancer Vol IV A: 281, 1995.
8. Donath K, Breuner GA: A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissue. J Oral Pathol 1982;11:318-326.
9. Linde A, Thoren C, Dahlin C: Creation of new bone by an osteopromotive membrane technique: An experimental study in rats. J Oral Maxillofac Surg 1993;51:892-897.
10. Dahlin C, Lindhe A, Gottlow J, Nyman S: Healing of bone defects by guided tissue regeneration. Plast Reconstr Surg 1988;81:672-676.
11. Bluhm AE, Laskin DM: The effect of polytetrafluoroethylene cylinders on osteogenesis in rat fibular defects ; A preliminary study. J Oral Maxillofac Surg 1995;53:163-166.
12. Dahlin C, Alberius P, Lindhe A: Osteopromotion of cranioplasty; An experimental study in rats using a membrane technique. J Neurosurg 1991;74 :487-491.
13. Dahlin C, Gotttlow J, Lindhe A, Nyman S: Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique; An experimental study in monkeys. Scan. J Plast Reconstr Hand Surg 1990;24:13-19.
14. Aukhil I, Petterson E, Suggs C: Guided tissue regeneration; An experimental procedure in beagle dogs. J Periodontol 1986;57:727-734.
15. Lekovic V, Kenny EB: Guided tissue regeneration using calcium phosphate implants together with different membranes ; A study on furcations in dogs. J Periodontol 1993;64:1154-1156.
16. Barry KB, James AC: Evauation of a high-density polytetrafluorethylene(n-PTFE) membrane as a barrier matrial to facilitate guided b o n e regeneration in the rat mandible. J Oral Implant 1995;21:88-95.
17. 장도근, 송재철, 이용규, 김진수: 가토하악골 결손부의 골재생에 있어서 n-PTFE의 효과. 대한구

강악안면외과학회지 1997;23:487-496.

18. 조세인, 여환호, 김영균, 임석균 : An experimental study on GTR technique using lyodura and microfilter in rat's osseous defects. 대한구강악안면외과학회지 1995;21:535-539.
19. Garrett S, Martin M, Egelberg J: Treatment of periodontal furcation defects; Coronally positioned flaps versus dura mater membranes in class III defects. J Clin Periodontol 1990;17:179-185.
20. Yukna RA: Clinical human comparison of e-PTFE barrier membranes and freeze-dried dura mater allografts for guided tissue regeneration of lost periodontal support. I. mandibular molar class II furcations. J Periodontol 1992;63:431-442.
21. Fontana E, Trisi P, Diatteli A: Freeze-dried dura mater for guided tissue regeneration in post-extraction dental implants: a clinical and histologic study. J Periodontol 1994;65:658-665.
22. Robert PM, Frank RM: Periodontal guided tissue regeneration with a new resorbable polylactic acid membrane. J Periodontol 1994;65:414-422.
23. Lundgren D, Nyman S, Mathisen T, Isaksson S, Klinge B: Guided tissue regeneration of cranial defects using biodegradable barriers: An experimental pilot study in the rabbit. J Craniomaxillofac Surg 1992;20:257-260.
24. Galgut P, Pitrola R, Waite I, Doyle C, Smith R: Histological evaluation of biodegradable and non-degradable membranes placed transcutaneously in rats. J Clin Periodontol 1991;18:581-586.
25. Blumenthal NM: A clinical comparison of collagen membranes with e-PTFE membranes in the treatment of human mandibular buccal class II furcation defects. J Periodontol 1993;64:925-933.
26. Mundell RD, Mooney MP, Siegel MI, Losken A: Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. J Oral Maxillofac Surg 1993;51:1004-1012.
27. Morain WD, Colby ED, Stauffer ME, Russell CL, Astorian DG: Restoration of orbital wall fenestrations with polyglactin 910 film. Plast Reconstr Surg 1987;80:769-774.
28. 손재희, 김종렬: 다양한 차단막을 이용한 가토 골결손부의 골조직 유도 재생술에 관한 실험적 연구. 대한 구강악안면외과학회지 1997;23:474-486.
29. Caton J, Firanty B, Greenstein G: Synthetic biodegradable barrier for regeneration in human periodontal defects. J Periodont Res 1990;69:275.
30. Hardwick R, Hayes BK, Flynn C: Devices for dentoalveolar regeneration: An up-to-date literature review. J Periodontol 1995;66:495-505.
31. Aukhil I, Simpson DM, Schaberg TV. An experimental study of new attachment procedure in beagle dogs. J Periodontal Res 1983;18:643-654.
32. Grevstad HJ: Effect of subperiosteally implanted polytetrafluoroethylene(PTFE) material on alveolar bone in the rat. Scan J Dent Res 1993;101:224-228.
33. Tempro PJ, Nalbandian J: Colonization of retrieved polytetrafluoroethylene membranes: Morphological and microbiological observations. J Periodontol 1993;64:162-1618.
34. Becker W, Becker B, Berg L, Prichard J, Caffesse R, Rosenberg E: New attachment after treatment with root isolation procedures: reports for treated class III and I furcations and vertical

- osseous defects. *Int J Periodont Restorative Dent* 1988;3:2-16.
35. 최성호, 김준일, 문익상, 조규성, 채중규, 김 종관 : Dura mater가 성견 3급 분지부 병소 의 치 유에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 1996;26:591-604.
36. Mannai C: Histologic evaluation of purified bovine tendon collagen sponge in t o o t h extraction sites in dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986;61:315-323.
37. Stein MD, Salkin LM, Freedman AL, Glushko V: Collagen sponge as a topical hemostatic agent in mucogingival surgery. *J Periodontol* 1985;56:35-38.
38. O'Connor GB, Pierce GW: Refrigerated cartilage isografts. *Surg Gynec Obstet* 1938;67:796.
39. Straith CL: Grafts of preserved cartilage in restorations of facial contour. *J Amer Med Ass* 1941;116:2008.
40. Blackstone CH, Parker ML: Rebuilding the resorbed alveolar ridge. *J Oral Surg* 1956;14:45-57.
41. Boyne PJ, Cooksey DE: Use of cartilage and bone implants in restoration of edentulous ridges. *J Am Dent Assoc* 1965;71:1426-1435.
42. Rassumowska D: The influence of lyophilized bone in periodontopathy. *Acta Med Pol* 1970;11:303-307.
43. Sailer HF: Experiences with the use of lyophilized bank cartilage for facial contour correction. *J Oral Surg* 1976;4:149-157.
44. Sailer HF: Transplantation of lyophilized cartilage in maxillofacial surgery. Basel, NY : Krager. 1983.
45. Davis WM: Replacement of freeze-dried allogenic cartilage chin graft with host bone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;73:541-542.
46. 정필훈: 냉동건조 은행골의 개발 및 이의 실험적 연구. *대한악안면성형재건외과학회지* 1996;18: 164-174.
47. 정필훈: 유리골 이식을 통한 하악골 결손부의 기능적 재건술. *대한악안면성형재건외과학회지* 1993;15:338-343.
48. 이기웅, 남일우: 골 결손부 처치에 있어 생체 흡수성 차폐막에 의한 유도 골 재생에 대한 실험적 연구. *서울치대논문집* 1996;20:154-184.

Table 1. The histologic comparison of the mandibular defects at postoperative intervals

Histologic Finding	Experimental Group Sites				Control Group Sites			
	2weeks	4weeks	6weeks	8weeks	2weeks	4weeks	6weeks	8weeks
Bone formation at the defect margin	+	+	+	+	-	-	-	-
Inflammation	-	-	-	-	-	+	-	-
Calcification of regenerated bone	-	+	++	+++	-	-	-	-
Mature bone formation	-	-	+	++	-	-	-	-
Cartilage formation	-	+	+	+	-	-	-	-
Fibrous connective tissue formation	-	-	-	-	-	+	+	+

(-: negative, +: mild, ++: moderate, +++: active)



Fig.1. Photograph of biologic membrane made of lyophilized cartilage

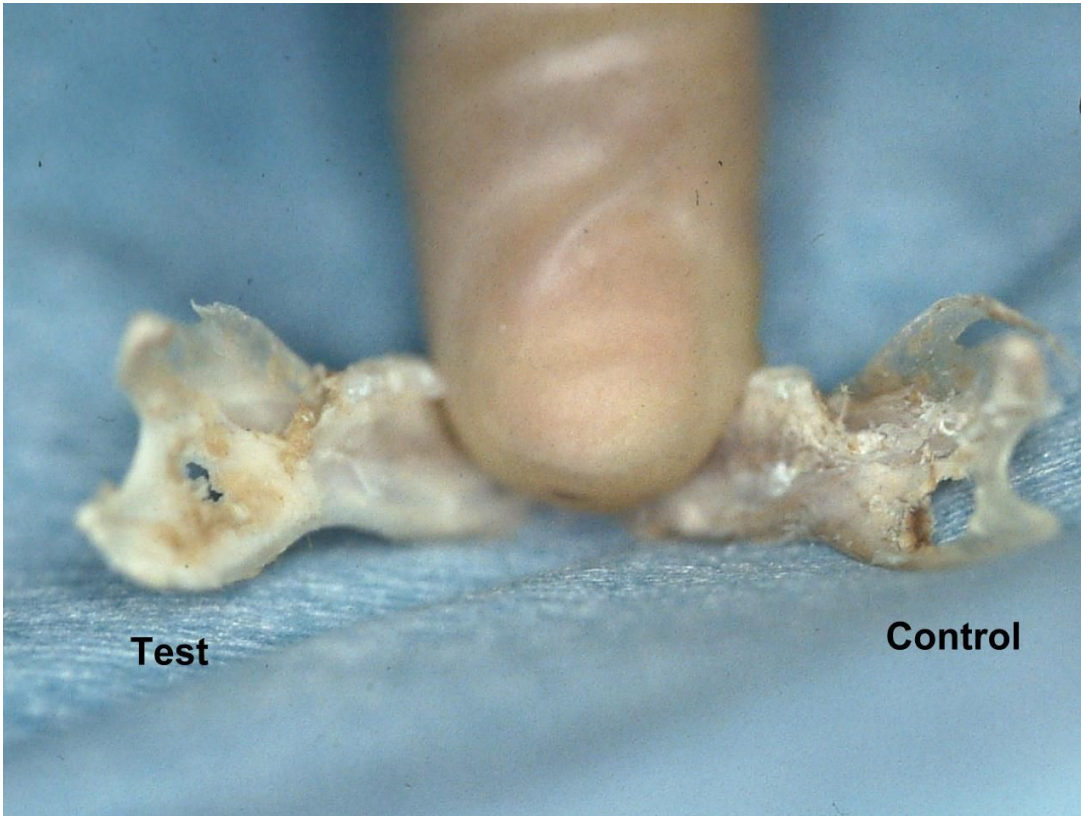


Fig. 2. The mandibular specimen 2 weeks after experiment.
The ingrowth of the margin of defects can be observed on the test side, but control side show no change.

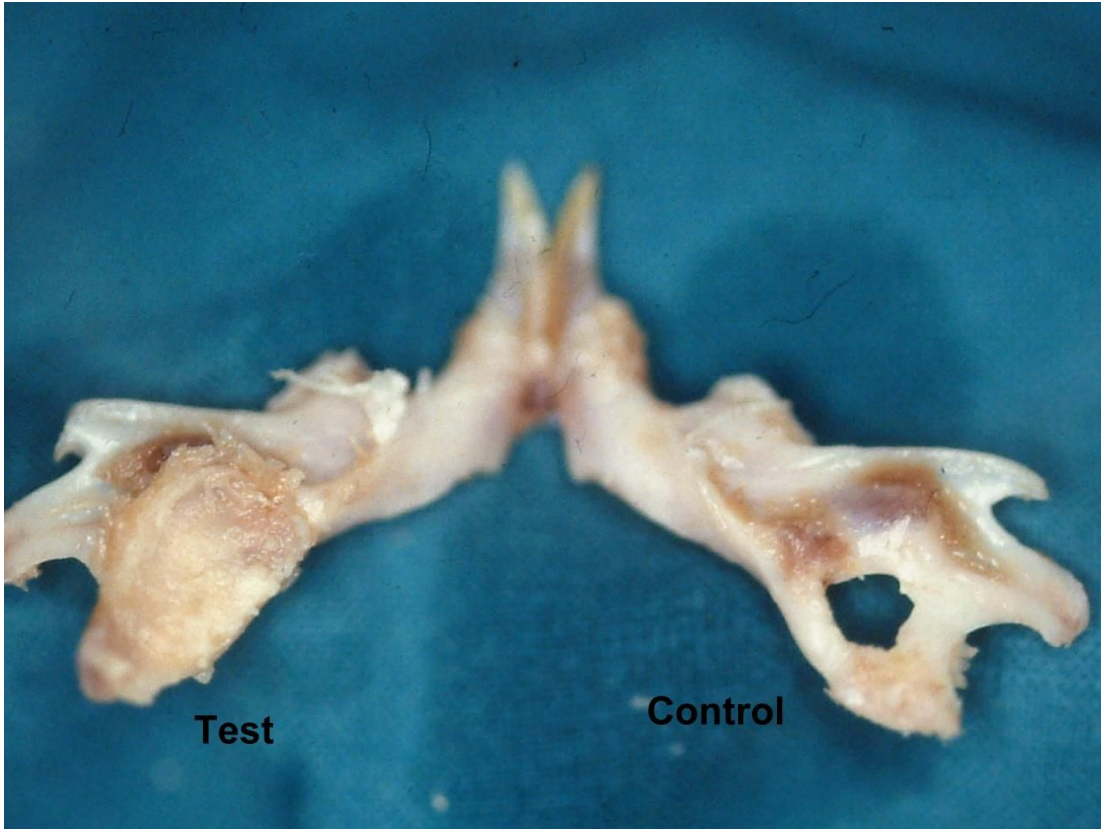


Fig. 3. The mandibular specimen 6 weeks after experiment.
The membrane was adherent to the underlying bone very firmly and the defects were completely filled with a hard bone-like tissue on the test side, whereas the control side exhibited no healing or remodelling of the defects margin.

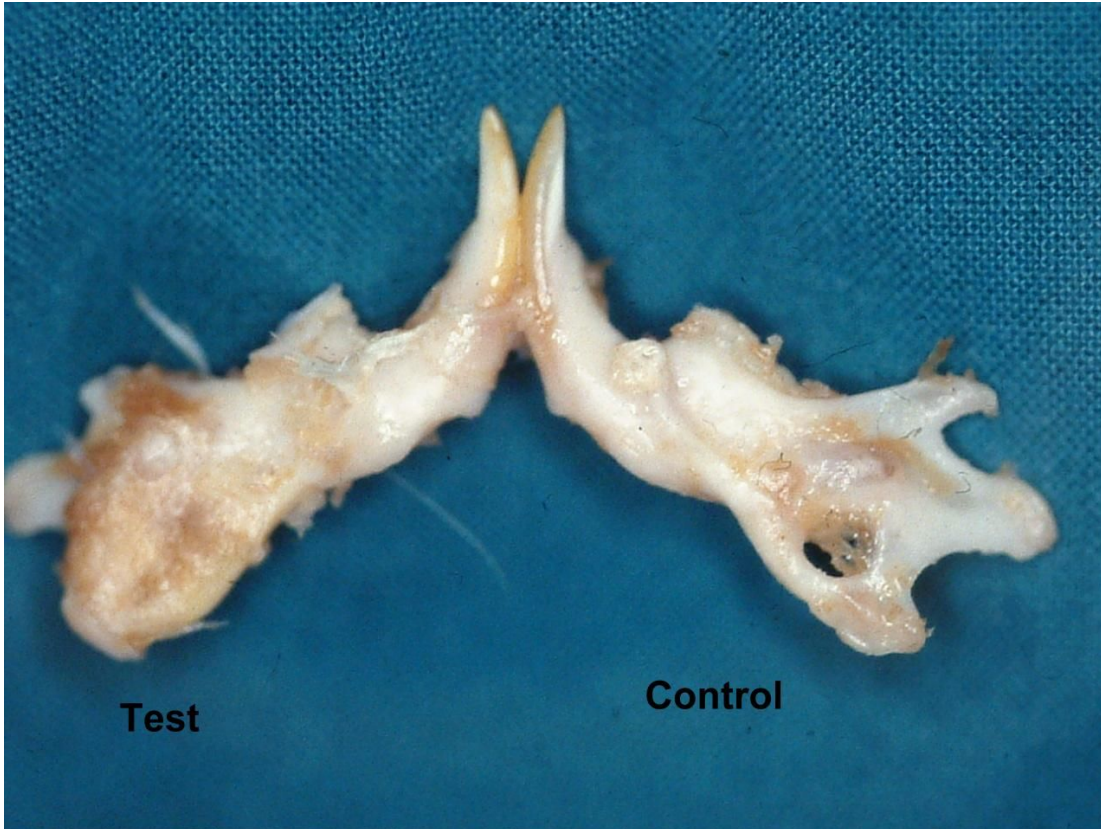


Fig. 4. The mandibular specimen 8 weeks after experiment.
The bone-like tissue filling the defects on the test side was harder. Control defects remained unhealed, even in the 8 weeks group.



Fig. 5. Photomicrograph of experimental group 2 weeks after experiment. Immature bone growing out from the pre-existing bone was evident on the margins of the defect. Newly formed bone was not yet visible in the central part of the defects. (x 40, von Kossa stain), NB – new bone formation

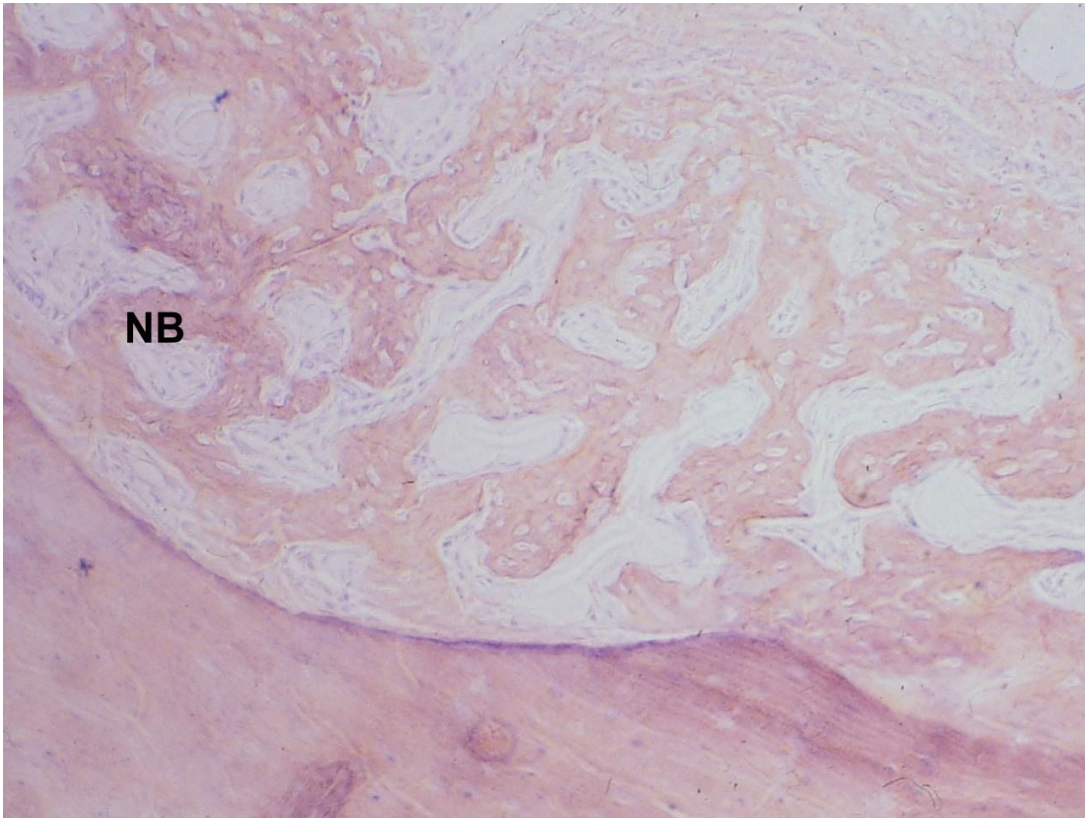


Fig. 6. Photomicrograph of experimental group 2 weeks after experiment. Ingrowth of immature bone can be observed. (x100, von Kossa stain), NB – new bone formation

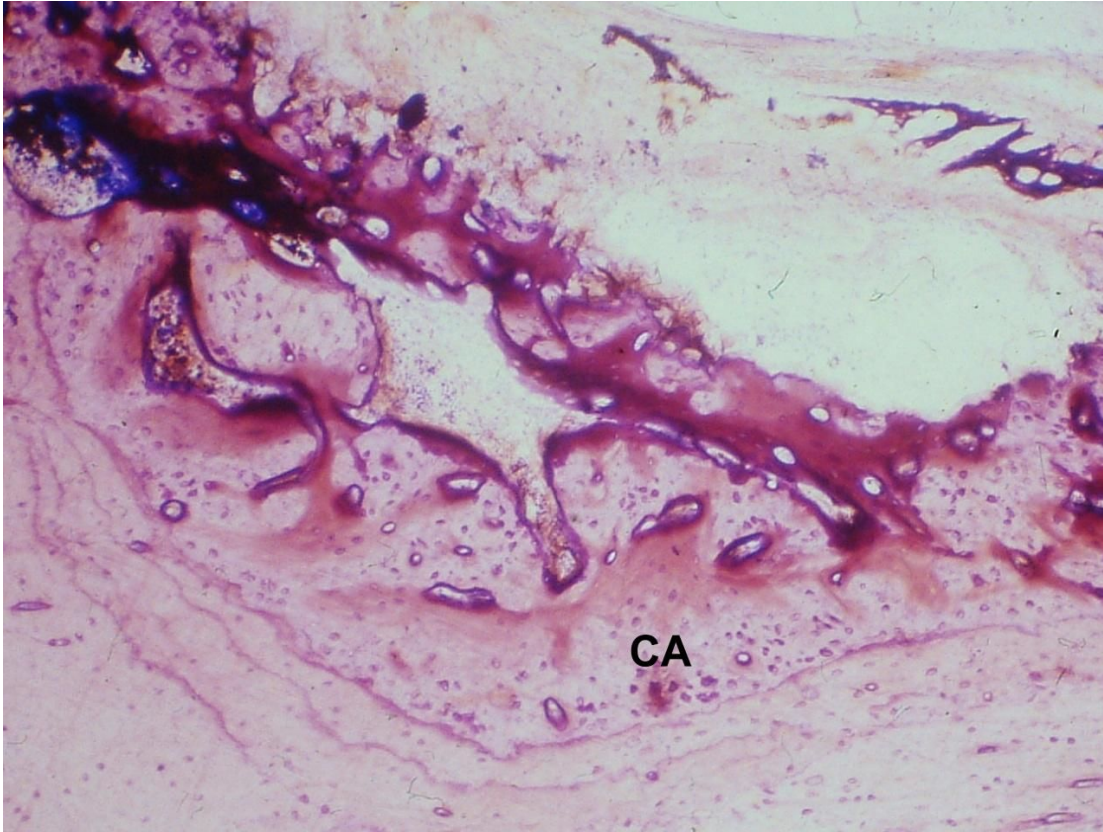


Fig. 7. Photomicrograph of experimental group 4 weeks after experiment. Some cartilage forming area that were surrounded by chondroblasts can be observed. (x40, von Kossa stain)
CA - cartilage formation

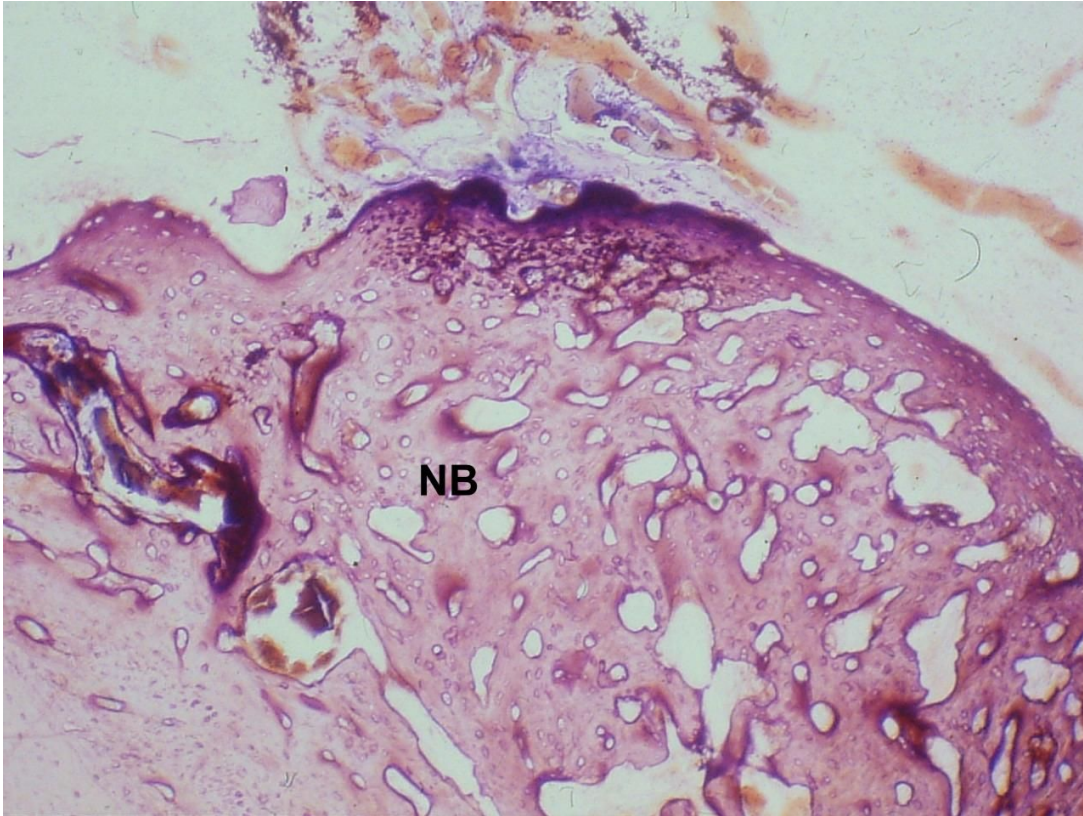


Fig. 8. Photomicrograph of experimental group 6 weeks after experiment.

The leading edge of new bone formation into the interior of the defects was accompanied by numerous capillaries. (x40, von Kossa stain), NB – new bone formation



Fig. 9. Photomicrograph of control group 6 weeks after experiment. Surgical defects created on the control side that were not covered by lyophilized cartilage membranes do not show healing. (x40, von Kossa stain), D – defect area

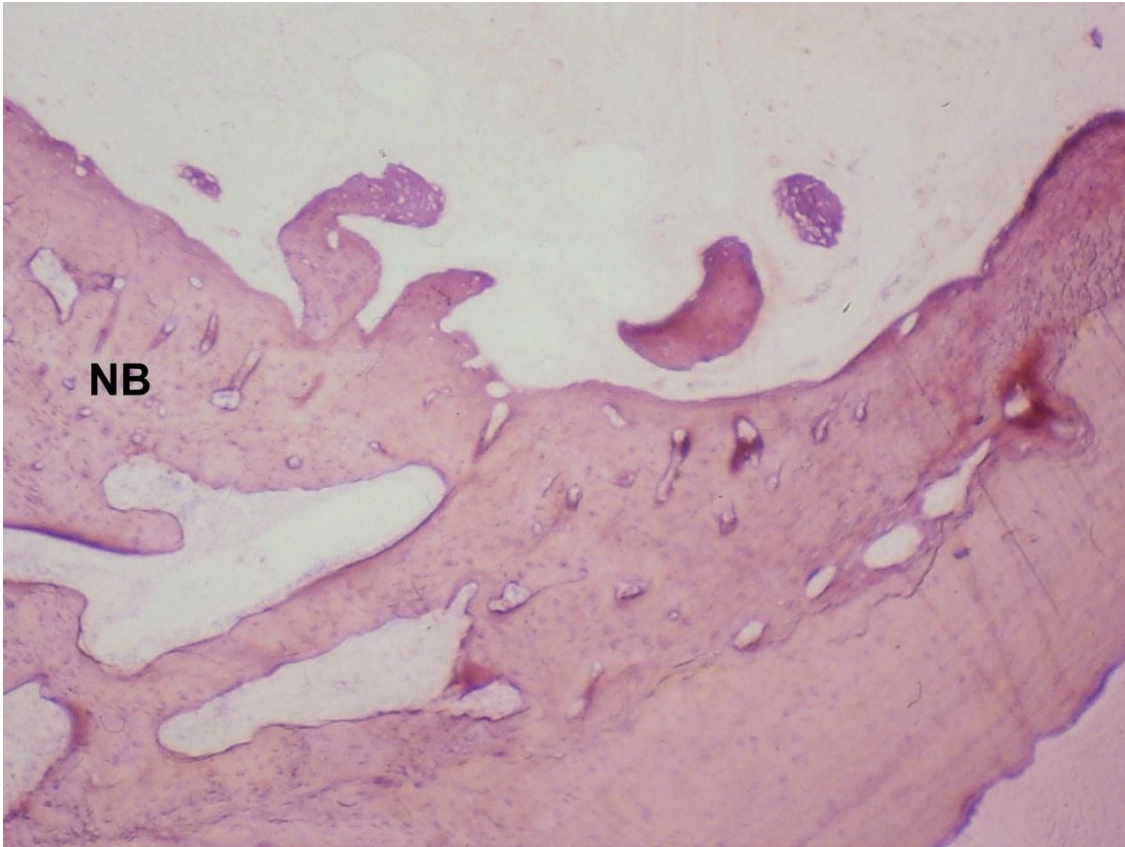


Fig. 10. Photomicrograph of experimental group 8 weeks after experiment. The defects were completely filled with matured bone on test side. (x40, von Kossa stain), NB – new bone formation

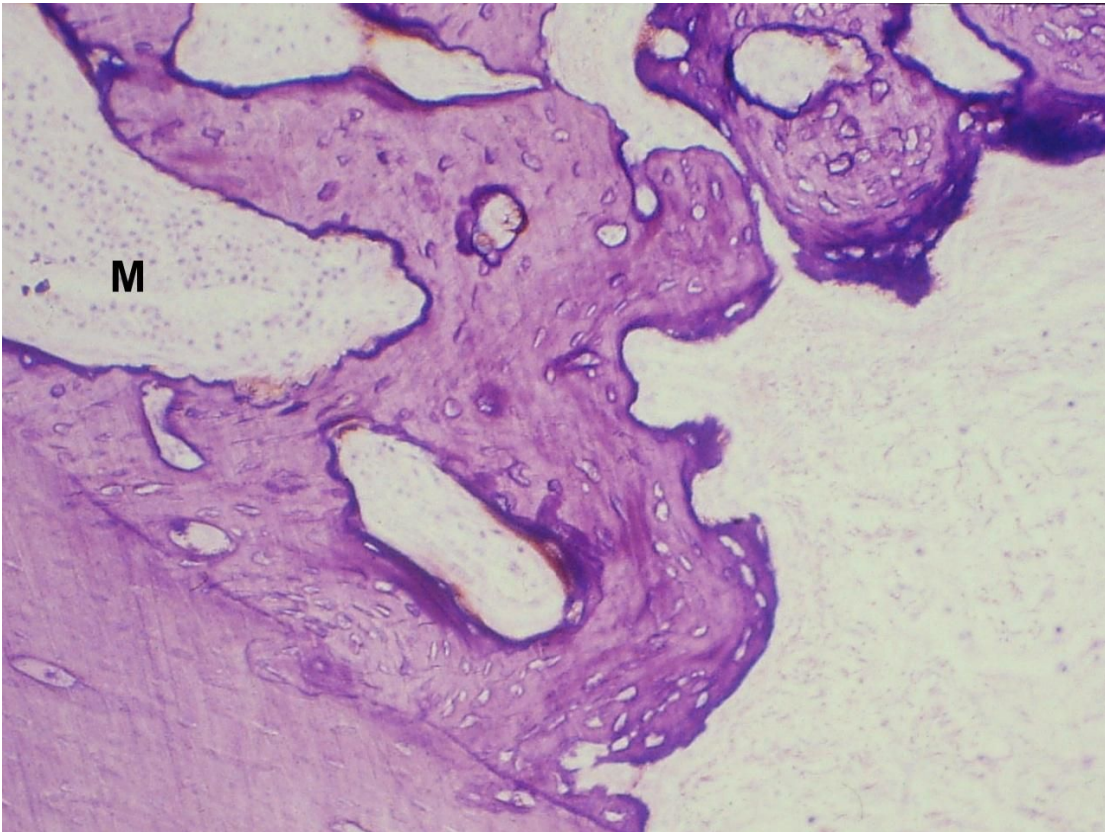


Fig. 11. Photomicrograph of experimental group 8 weeks after experiment. The mature bone has enlarged bone marrow space. (x100, von Kossa stain), M – bone marrow



Fig. 12. Photomicrograph of control group 8 weeks after experiment. The control side do not healing, but margin of defects exhibited remodelling. The control side were partially filled with fibrous connective tissue, and remodelling and rounding of the defect margin is observed. (x40, von Kossa stain), D – defect area