흰 쥐 치아재식시 Dexamethasone과 OP-1 이 치주조직의 치유와 치근 흡수에 미치는 영향

연세대학교 대학원

치 의 학 과

권 오 택

흰 쥐 치아재식시 Dexamethasone과 OP-1 이 치주조직의 치유와 치근 흡수에 미치는 영향

지도 이 승 종 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2000년 12월 일

연세대학교 대학원

치 의 학 과

권 오 택

권오택의 박사 학위 논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연 세 대 학 교 대 학 원

2000년 12월 일

감사의 글

백양로를 따라 걸어온 긴 십칠년 ,이제 지금까지 제 삶의 절반을 뒤로하고 가야할 길의 시작에 서 있는 제가 박사학위를 받기까지 너무도 많은 분들에게 은혜를 입었기에 이 글을 통해 지면으로나마 감사의 뜻을 전하려고 합니다. 부족한 저였기에 주변의 도움이 저에게는 더욱 값진 것이라고 생각합니다. 이를 거울삼아 이제는 저도 도움을 받기보다는 더 많은 도움을 줄 수 있는 생활인이 되고자 다짐하며, 이것이 그 동안 은혜를 주신 모든 분들에게 다소나마 보답할 수 있는 길이라고 생각합니다 .

본 논문이 완성되기까지 한결같이 보살펴 주시고 가르침을 주신 이승종 교수님께 머리숙여 존경과 감사를 드립니다. 또한 항상 따뜻한 관심과 조언을 하여주신 이찬영 교수님, 윤태철 교수님, 금기연 교수님, 박성호 교수님께도 진심으로 감사를 드립니다. 또한 바쁘신 시간중에도 부족한 저의 논문심사를 허락하여 주신 치주과학 교실의 김종관 교수님, 구강 병리학 교실의 김진 교수님께도 감사의 말씀을 드리며, 실험 동안 손과 발이 되어준 송상채, 이준우, 권택신, 김현기 선생께 그리고 본 논문의 편집과정을 도와준 홍경식 선생과 이준영군에게도 감사의 말씀을 드립니다.

끝으로 오늘의 제가 있기까지 사랑과 격려로 돌봐주신 부모님께 머리숙여 감사를 드립니다. 자상한 형님 내외분과 동생 오진이에게 고마움을 전하고 싶습니다 부족한 사위를 위해 항상 관심과 격려를 보내주신 장인 ,장모님 그리고 처남 내외에게도 깊은 감사를 드립니다. 힘든 임신과 출산의 과정에서도 묵묵히 인내하며 밝은 웃음과 따뜻한 사랑으로 큰 힘이 되어준 세상에서 가장 아름다운 아내와 우리들의 최고의 보배인 지은, 혁준이와 이 조그마한 기쁨을 함께 하고자 합니다

2000년 12월

저자 씀.

목차

그림, 표, 및 사진부도 목차

국문요약

흰 쥐 치아 재식시 Dexamethasone과 OP-1이 치주조직의 치유와 치근 흡수에 미치는 영향

이 연구의 목적은 첫째, dexamethasone과 OP-1을 건조한 쥐 치아 치근면에 도포한 후 재식 하였을 때 나타나는 치주조직의 치유와 치근흡수의 정도를 관찰하는 것과, 둘째, tetracycline의 전신적인 투여 후 염증 방지에 미치는 영향을 알아보는 데 있다.

본 실험에서는 4주된 Sprague-Dawley계 흰 쥐 60마리를 사용하였다. 발치를 용이하게 하기 위하여 5일 동안 beta- aminoproprinitrile로 전처치한 후, 상악 제1대구치를 발거하여 근심 근관을 caviton® 으로 근관충전 하고 치근면을 citric acid 포화 용액에서 1분간 처리한 후 세척 건조하고, 실험용액에 3분 동안 침전시킨 후 발치와에 재식하였다. 발치에서 재식까지 소요시간은 약 30분이 되도록 조절하였다. 실험군은 실험용액에 따라 DEX 500nM/ml, 1000nM/ml, OP-1 100ug/ml, 500ug/ml의 4가지로 분류하였다. 여기에 항 염증효과와 초기 치근흡수 방지효과를 조사하기 위해 tetracycline를 전신적으로 투약한 것과 투약하지 않은 군으로 나눠 총 8개의 실험군을 형성하여 비교하였다. 재식 3주 후 조직학적 관찰을 통해 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. 활동성 치근 흡수의 정도는 고농도의 DEX(1000nM/ml)군과 OP-1 (500ug/ml)이 저농도의 DEX(500nM/ml)군과 OP-1(100ug/ml)군에 비해서 유의성 있게 낮았다($p<0.05$).

2. 골유합 정도는 고농도의 DEX(1000nM/ml)군이 저농도의 DEX(500nM/ml)와 OP-1(100㎍/ml)군보다 유의성 있게 높았고($p<0.05$), 고농도의 OP-1(500㎍

ml)군은 저농도의 DEX(500nM/ml)와 저농도의 OP-1(100μg/ml)군보다 높게 나타났으나 통계학적인 유의차는 없었다.

3. 염증정도는 고농도의 DEX군과 OP-1군이 저농도의 DEX군과 OP-1군 보다 유의성 있게 낮게 나타났다($p<0.05$). Tetracycline에 대한 효과는 저농도의 OP-1군과 저농도의 500DEX군에서 투여하지 않은 군보다 투여한 군에서 염증정도가 유의성 있게 낮게 나타났다($p<0.05$).

이상의 결과를 토대로, 고농도의 OP-1(500μg/ml)이 치근흡수, 염증정도에서 가장 우수하였고, 골유합은 많이 나타났으나, 조직학적인 관찰결과 치주 재생 능력면에서도 가장 뛰어나다는 결론을 얻을 수 있었다.

핵심되는 말: 치주조직의 치유, 치근흡수, 골 유합, 염증, OP-1,dexamethasone, tetracycline

흰 쥐 치아 재식시 Dexamethasone과 OP-1이 치주조직의 치유와 치근 흡수에 미치는 영향

(지도교수 이 승 종)

권 오 택

Ⅰ. 서 론

치아 재식은 통법의 근관치료가 실패하고 해부학적인 어려움으로 인하여 정상적인 치근단 수술을 시행하기 어려운 경우나 안면외상 등의 이유로 치아가 완전 탈구된 경우 시행된다. 치아 재식의 경우 치조 골과 백악질 사이의 치주인대의 손상 없이 치아를 발거 하기란 불가능하며 이로 인한 문제로써 치근흡수 및 골성유합이 빈번히 나타난다. 백악질 표면이 기계적 손상을 받은 경우, 손상된 부위에 표면흡수(surface resorption)라 불리우는 얕은 흡수와가 발생된다. 그러나 치주인대의 손상이 적고 치수와 상아질이 세균에 오염되지 않은 경우에는 빠른 치주인대 재생과 신생 백악질의 회복이 일어난다고 보고되었다.[1,2] Lindskog[3]에 의하면 표면흡수가 일어나는 기전은 초기에 혈행성 기원(hematogeneous origin)으로 보이는 파치세포들이 상아질 표면에 부착된 다음 주름 변연(ruffled border)이 형성되며, 현미경적 관찰에 의한 미세구조 또한 경조직을 흡수하는 세포들의 특성을 갖는다고 보고하였다. 여기서 투명대는 관찰되지 않는데 이는 상아질이 투명대를 유도할 자극을 주지 못하기 때문이라고 추론하고 있다. 투명대의 부재로 파치세포들은 견고하게 부착되지 못함으로써 흡수능력도 저하되면서 점차 섬유아 유사세포

(fibroblast-like cell)들이 표면에 분포하게되고 백악질을 분비하기 시작하면서 치유가 일어난다고 여겨진다.

완성된 치근을 가진 치아의 경우, 탈구 후 치수에 혈액공급의 중단이 일어나게 되고 이 때 혈관재생은 일어나지 않는다고 보고되었다. 그 결과 치수는 괴사되고 타액이나 세균과의 접촉으로 인해 감염이 된다. 치근면을 덮고 있는 백악질이 손상받지 않는 경우 세균과 치수조직의 변성으로 인한 산물은 근관내에만 머물게된다. 일단 백악질과 intermediate cementum이 표면흡수로 소실되면 상아세관은 세균과 독소산물의 통로로 작용하여 치주인대에는 염증반응이 일어나고 치근과 치조골이 파괴된다. 이 과정을 염증성 치근흡수(inflammatory root resorption)라하며 임상적으로는 동요도의 증가와 치아의 정출로 나타나며 방사선 상에서는 bowl-shaped radiolucency가 특징적이다. [2,4)]

치주인대내의 염증조직은 육아조직으로서 림프구, 형질세포, 중성 다핵 세포를 다량 포함한다. 치근 표면에는 Howship′s lacunae와 파치세포가 관찰된다. 표면흡수는 일시적인 현상이데 비해, 염증성 흡수는 방치될 경우 계속 지속될 수 있다. 재식 후 2주일이 경과 되면 관찰이 가능하며 수 개월 내로 치아의 소실을 초래할 수 있다.[5,6)] 염증성 흡수는 근관내의 괴사조직을 제거함으로써 예방 및 중단시킬 수 있지만 경우에 따라서는 근관치료를 수행한 후에도 약 40주간 염증성 흡수가 지속될 수 있다고 보고되었다.[7)]

치주인대가 광범위하게 괴사된 치아를 재식하는 경우에는 치주인대의 재생없이 골과 치근 사이의 유착성 융합이 일어나게 되고 점진적으로 치근은 층판골로 대치되게 된다. 이를 대치성 치근흡수(replacement root resorption)라 하는데 골성유합(ankylosis)이라고도 하며 임상에서는 재식 치아의 infraposition이 있거나 혹은 타진에 금속성 소리가 나는 것에 의해 진단할 수 있다. 이러한 대치성 흡수는 재식 후 약 3개월에 치근단 ⅓에서 흔히 볼 수 있다고 하였으며 대부분의 경우 1년 이내에 일어난다고 보고되고 있다.[1,8)] 그러나 Tronstad [9)]등은 치아표면의 치주인대의 괴사가 전체 치근 표면의 20%를 넘지 않으면 골성 유합이 회복될 수도 있다고 언급하였다.

심한 대치성 치근 흡수는 치주 인대 세포의 생활력이 많이 소실되었을 경우에

볼 수 있는데 ,주로 탈구 후에 재식 기간이 길었거나 탈구된 치아의 저장방법이 부적절 하였을 때 볼 수 있다. 따라서 대치성 치근흡수를 예방하기 위해서는 발치 시 외상을 줄여 치주 인대의 손상을 최소화하고 발거 된 치아는 15-20분 이내에 재식하는 것이 예후에 중요한 영향을 미친다고 보고되었다.[2,10]발거된 치아의 건조를 막기 위해서는 보관용액의 선택이 중요하며 보관용액으로는 구강저(타액) ,생리 식염수, 우유, 조직배양액이 있다고 보고되었다.조직 배양액은 실험적 연구에서 치주 인대 세포의 보존이 좋았으며 그중 Viaspan이 탁월한 효과를 보였다고 보고되었다.[11]

구강외 시간이 길어지게 되어 치주인대가 괴사 될 것이 예측 되는 경우에는 치아표면을 sodium flouride, tetracycline, stannous flouride, citric acid, hypocholic acid, calcium hydroxide, alcohol, bisphosphonates, formalin, alchol, indomethacin등으로 처치한 다음 재식하는 것이 제안되었다.[11]

하지만 각 재료에 대한 장기간 치근 흡수 방지 효과에 대해서는 아직 확실하지가 않다. 또한 대치성 흡수방지를 위해 치아와 발치와 사이에 silicone grease and methyl methacrylate, absorbable surgical sponge, venous tissue, fascia등을 놓이게 하였으나 역시 결과는 만족할 만하지 못하였다. [11] 부가적인 처치로 전신적 항생제 투여는 괴사치수와 치주 인대의 감염을 방지하여 염증성 치근 흡수를 예방할 수 있으므로 항생제를 재식 시기에 투여하는 것이 바람직하다고 보고되었다.[12]

Dexamethasone(이하 DEX)은 재식 후의 심한 염증성 반응을 막기 위하여 광범위하게 사용되어 왔다. 특히 이 약재는 파치세포의 골 흡수를 감소시키는데 큰 역할을 한다.[13] 따라서 이 약재는 치주 인대가 손상된 다음 초기 염증성 반응을 조절하는데 사용되고 골 유래(bone-derived)의 세포에 의한 치유보다는 조백아세포(cementoblast)에 의한 복구가 가능하도록 하여준다. 특히 이 약재는 세포의 증식과 분화에 중요한 조절자 역할을 담당한다. 전신적으로는 장기간 너무 많이 투여하면 오히려 골 흡수가 증가할 수가 있으므로 적용에 세심한 배려가 요구된다.[13] 1986년 Tenenbaum[14]등은 in vitro의 세포배양 실험에서 DEX가 조골세포의 증식과 분화에 큰 영향을 미친다고 보고하였고, 1989년 Tobias[18] 등은 DEX가 골흡

수의 활동성과 파치세포의 생존력을 억제한다고 보고하였다. 또한 Pierce등도 DEX가 파치세포의 활동성을 억제한다고 보고하였다. 1998년 Sae-Lim, Martin Trope[13]등은 개 치아의 재식에서 국소적으로 dexamethasone을 치근면에 도포한 결과 치주조직의 치유가 우수하였다고 보고하였다.

Bone morphogenic protein(이하 BMP)은 1965년 Urist [15]가 수종의 산으로 탈회한 골 바탕 질을 근육 또는 피하에 이식하여 골이 유도됨을 확인함으로써 그 존재가 알려진 이래 1971년 Urist에 의해 Bone morphogenic protein으로 명명되었다.[16] 1972년 Reddi등은 피하조직에 이식한 bone matrix가 토끼와 흰쥐에서 간엽세포의 이형성 변화(metaplastic change)를 유도하여 연골내골화를 일으키며 이는 배자 형성 시나 골절치유 시에 일어나는 연골내골화와 같은 방식을 따르는 것이 관찰되었고 골화를 유도하는 신호전달 체계가 있음을 제시하였다.[17]

이를 시작으로 BMP의 정재가 시도되었으며 그 결과 BMP는 약 16-18kDa의 subunit를 가지는 dimeric molecule임이 밝혀졌다. 이후 1988년 Wozney [19]등이 액체 chromatography법에 의해 부분 정재된 골유도 활성분획에 함유된 peptide단편을 시료로하여 유전공학적인 기법을 응용하여 4종류의 골유도 물질을 DNA cloning에 성공함으로써 그 가능성이 제시되었고 현재까지 BMP-1에서 BMP-13까지 13종류의 BMP가 밝혀져 있다.[20] 최근 C-proteinase임이 밝혀진 BMP-1을 제외한 BMP는 transforming growth factor(TGF)-beta super family의 일원으로 분류되고 있다.[21]

BMP는 세 개의 하부군(sub-group)으로 나눌 수 있으며 첫 번째 군인 BMP-2와 BMP-4는 서로간에 86%정도가 동일한 아미노산 구조를 가지고있으며 두 번째 subgroup인 BMP-5, BMP-6, BMP-7은 71-80%의 동질성을 가진다. 세 번째 subgroup인 BMP-3는 가장 독특하며 BMP-2와 45%의 동질성을 가진다.[22] 지금까지 밝혀진 BMP의 기능을 살펴보면 BMP-3는 배아의 골격형성, 골격의 항상성 유지, BMP-2,3,4,6은 태아 발달 중에 기관형성, BMP-7은 CNS 발달에 영향을 주며 BMP-2,4는 치배, 조상아 세포층, palatal shelves, craniofacial 조직의 형성에 영향을 주는 것이 밝혀졌다.[22] 치아와 치아주위조직에 관한 BMP-7(OP-1)의 연구에서는 BMP-7이 신생골과 신생 백악질 형성을 촉진하여 치주 재생을 증진시킬

수 있다는 것이 보고되었다.[23] 또한 BMP가 쥐의 신생골과 신생 백악질의 형성을 증진시켜 치아 유착 없이 쥐 대구치에서 치주조직 재생을 보였다고 보고하였다.[24] 건전한 치주인대 조직에 BMP를 적용한 경우 초기에 골형성을 보이다가 기능 운동이 가해지면서 정상적인 치주인대를 유지할 수 있다고 보고되었다.[25]

지금까지 보고된 연구들은 주로 치주영역에서 치아를 발거하지 않은 상태에서 OP-1을 도포한 후 조직학적로 관찰한 실험이 대부분 이였으며, 치아를 발거한 상태에서 치아 재식시 OP-1과 DEX의 효과에 대한 연구보고는 매우 미흡하였다. 따라서 본 연구에서는 백서의 상악 대구치를 발거한 후 일정시간 체외에서 자연건조시킨 다음 DEX와 OP-1을 치면에 도포하고 재식하여 골 및 백악질의 재 형성 및 치주재생에 관한 효과를 조사하였다. 또한 teracyclin의 항 염증효과 및 초기 치근흡수 방지효과를 평가하기 위해 전신적으로 항생제를 투여하여 투여하지 않은 군과 비교하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 실험 동물의 전 처치

본 실험에 사용된 동물은 생후 4주된 체중 100gm내외의암컷 Sprague-Dawle-y계 흰쥐 60마리를 이용하였다.

용이한 발치를 위해 0.4% β-aminopropriontrile (β-APN, Chemical Co. USA, Sigma)를 함유한 purina 분말과 물을 사료로서 발치전 5일간 공급하였다. Ketamine(0.1mL/100gm) 마취 하에 접근이 가장 용이한 상악제 1대구치를 발치하였다. 날카로운 탐침으로 peritomy를 시행한 후 주위조직에 최소한의 외상을 가하면서 발치하였다. 이 때 발치와의 출혈은 면봉으로 조절하였다. 발치후에는 5개의 치근의 건전성을 확인하고 가장 굵고 긴 근심근을 실험에 사용하였다.

2. 근관 처치

근관감염의 영향을 배제하기 위하여 근심근 부위의 치관에 고속엔진용 #330 bur를 사용하여 근관와동를 형성한 다음 #40 H-file로 치수를 제거하고 NaOCl 용액과 saline을 번갈아 가며 세척하였다. 근관내를 완전히 건조시키고 endodontic vertical condenser를 이용하여 치관 부위에서 치근쪽으로 caviton을 다져넣었다. 여기서 흘러나온 caviton은 제거하고 다시 한번 역충전을 실시하였다.

3. 실험군처리

가. 치주인대 처치 및 양성대조군

근관처치 후 citric acid에 1분 동안 담가두었다가 saline으로 완전히 세척하였다. 일정시간 자연건조시키고 실험에 사용될 약제에 3분 동안 담근 다음 건조시

키고 재식하였다. 발치에서 재식까지 약 30분이 소요되도록 조절하였다. 근관치료 후 30분간 자연건조 시킨후 아무런 처치를 하지 않고 재식한 실험군을 양성대조군으로 명하였다.

나. 음성대조군

치아 및 치주인대와 치조골의 손상을 최소화하기 위해서 beta-APN을 5일 동안 섭취시킨 다음 특별히 고안한 발치감자를 사용해서 쥐치아를 발거후 즉시 재식하였으며 3주 후에 희생후 조직학적으로 관찰하였다. 비발치 표본과 비교하였을 때 정상적인 치유가 되는 것을 관찰할 수 있었다.

다. Dexamethasone(500nM/ml,1000nM/ml)군

기본용액은 dexamethasone (Sigma Chemical Co, USA) 20mM을 사용하였다. 이 기본용액에서 2ul를 취하여 100% ETOH 1998ul와 혼합하여 10uM/2000ul의 stock solution을 제조하였다. 제조된 stock solution에서 50ul를 취하여 ETOH 950ul를 혼합하여 DEX 500nM/ml를 얻었다. 또한 DEX 1000nM/ml를 얻기 위해 stock solution에서 100ul를 취한 후 ETOH 900ul와 혼합하였다.

라. OP-1(100㎍/ml, 500㎍/ml)군

OP-1은 solvent인 Tri-Fluoro-Acetic acid(TFA, $C_2HF_3O_2$: Sigma Chemical Co.)와 혼합하여 제조한다. 10ml의 sovent를 만들기 위해서 TFA 10ul를 취하여 ETOH 9.99ml를 혼합하였다. 실험군에 사용될 OP-1 100㎍/ml를 만들기 위해서는 solvent 100㎕에 OP-1 10㎍을 첨가하였다. 또한 OP-1 50㎍에 solvent 100㎕를 혼합하여 500㎍/ml를 제조하였다.

마. Tetracycline의 투여

염증 및 초기 치근흡수 방지를 위해 경구로 tetracycline을 투여하였다. 투여용량 및 횟수는 20mg/kg의 기준에 따라 재식후 1주일간 하루 두 번 투여하였다. DEX 군과 OP-1군 모두에서 tetracycline을 투여하여 투여하지 않은 군과 비교하

였다.

Table1. Experimental design for healing pattern after replantation with DEX and OP-1treatment

Group	Experimental Solution	No.
Positive control	30 minutes bench dry	8
Group 1	DEX 500nM/ml	9
Group 2	DEX 500nM/ml + tetracycline(TC)(P.O.)	8
Group 3	DEX 1000nM/ml	8
Group 4	DEX 1000nM/ml + TC(P.O.)	8
Group 5	OP-1 100㎍/ml	9
Group 6	OP-1 100㎍/ml +TC(P.O.)	9
Group 7	OP-1 500㎍/ml	8
Group 8	OP-1 500㎍/ml +TC(P.O.)	9

Numbers indicate actual number of successfully processed teeth

4. 실험동물의 희생 및 표본제작

실험군은 모두 재식 3주 후에 희생하였다. Ketamine 마취하에 실험동물의 가슴을 절개하고 심장을 노출시킨 후 하대정맥과 동맥을 겸자를 이용하여 결찰하고 양쪽 목정맥을 절개하였다. 좌심실에 23G 주사기를 삽입시키고 0.9% 생리식염수로 동물의 피를 흘려버린뒤 10% formalin 40ml를 심장을 통해 관류 고정한 후 상악턱뼈를 적출하였다. 상악턱뼈는 5% nitric acid에 5일간 탈회하였다. 상악제1대구치를 시상면에서 근원심 방향으로 절단하고 치근과 치근첨이 잘 연결된 조직을 선택하여 0.1M sodium cacodylate buffer로 세척하고 50%에서 100% ethanol로 단계적으로 탈수시킨 다음 Xylene으로 침착시킨 후 paraffin에 포매하였다. 광학현미경 관찰을 위해 microtome을 이용하여 4um 두께로 박절한 표본을 제작하고 hematoxylin-eosin로 염색하였다.

5. 조직학적인 관찰

가. 치근면의 치유정도

섬유아세포의 배열, 신생백악질의 생성정도, 표면흡수의 치유정도등을 조직표본상으로 정성적으로 평가하였다.

나. 치근의 흡수정도

상악 제1대구치의 근심근의 원심측면을 Image-Pro System(Version3.0Media Cybernetics,Maryland, USA)사용하여 측정하였다.

① 전체 치근면의 길이 : 치근단에서 furcation의 가장깊은 부위까지를 전체 길이로 하여 측정하였다.

② 활동성 흡수길이(%) : 주로 염증성 흡수로서 치근 두께의 1/2이상이 급격히 흡수되거나 파치세포가 명확히 관찰되어 급속하게 흡수되는 면의 길이를 측정하여 전체 치근길이에 대한 %로 나타내었다.

③ 골유합면 길이(%) : 골과의 유합된 치근면 길이를 측정하여 전체 치근길이에 대한 %로 나타내었다.

④ 염증 정도(%) : 치근면에서 염증세포가 나타나는 정도를 전체 치근길이에

대한 %로 나타내었다.

6. 실험자료의 분석

양성대조군 및 각 실험군의 전체 치근길이에 대한 %정도를 비교하기 위해서 비모수검정법인 Kruskal-Wallis 검정법으로 비교하였다. 각 군에 대한 비교는 Tukey의 다중비교를 실시하였다.

III. 연구성적

1. 조직학적 관찰

가. 즉시 재식군

발치 후 즉시 재식한 군으로써 치근단 부위에 백악질이 많이 생성된 것을 관찰 할 수 있었다. 섬유아 세포들을 규칙적으로 치근면에 대해 사선 방향으로 배열되어 있었다. 염증세포는 거의 관찰할 수 없었고 .약간의 표면흡수만 관찰 할 수 있었다.

나. 양성 대조군

광범위한 흡수양상을 볼 수 있었다. 치근면을 따라 파치세포가 존재하는 부위가 많이 발견되었다. 치근면에 존재하는 염증세포 또한 많이 발견되었다. 치근단에도 염증세포가 존재하였다

다. 실험 제1군(DEX 500nM/ml), 제2군(DEX 500nM/ml + TC)

한쪽 부분에서는 활동성의 염증성 흡수가 나타나고 다른 부분에서는 치주조직의 재형성 및 ankylosis가 나타났다. 섬유아세포들의 배열은 불규칙하고 파치세포가 존재하는 곳은 치근의 흡수뿐만 아니라 치조골도 흡수되는 경향을 보였다. tetracycline을 첨가한 경우 염증세포가 많이 감소됨을 알 수 있었다.

라. 실험 제3군(DEX 1000nM/ml), 제4군 (DEX 1000nM/ml + TC)

골 생성이 다량으로 나타남을 볼 수 있었으며, 대부분 치근과의 골 유합이 발생하였다. 골유합은 치근이 흡수되지 않은 상태에서 백악질과 직접적으로 부착되는 경우가 많았으며 조골세포는 골에 의해서 갇혀져있는 양상을 보이고 있었다. 염증세포가 거의 존재하지 않기 때문에 tetracycline 첨가여부에 따른 조직학적인

차이는 발견할 수 없었다.

마. 실험 제5군(OP-1 100㎍/ml), 제6군(OP-1 100㎍/ml + TC)

양성대조군에 비해서는 적게 나타나지만 상당량의 치근흡수를 관찰할 수 있었다. 파치세포가 존재하는 곳은 만(Bay-like)과 같은 모양의 흡수양상을 볼 수 있었다.

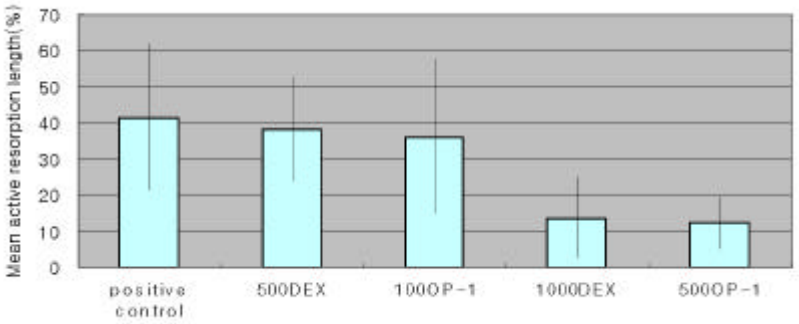
섬유아 세포들의 배열은 불규칙하고 치근단 뿐만 아니라 치근면에서도 염증세포가 존재하였고 tetracycline가 적용된 군에서는 염증세포의 수가 줄어듦을 알 수 있었다.

바. 실험 제7군(OP-1 500㎍/ml), 제8군(OP-1 500㎍/ml + TC)

골의 생성과 새로운 백악질의 형성 등을 볼 수 있었다. 고농도의 DEX보다는 적었으나 골유합이 나타난 곳은 많았고, osteoid matrix 주위로 커다란 조골아세포들이 왕성하게 활동하고 있었다. 표면흡수는 백악질에 의해 치유되고 있었으나 섬유아 세포들의 배열은 불규칙하였다.

2. 치근표면상의 흡수길이 측정

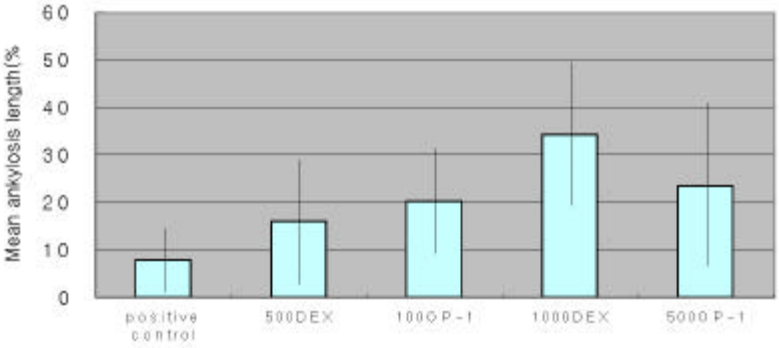
positive control * *
500 DEX * *
100 OP-1 * *



* statistically different at $p<0.05$.

Fig1. Mean active resorption length(%) and statistical significance among experimental groups.

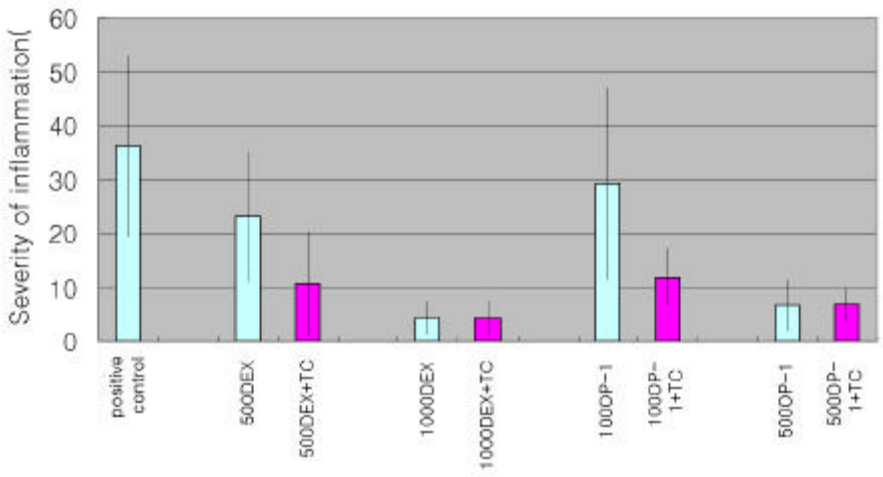
positive control *



* statistically different at $p<0.05$.

Fig2. Mean ankylosis length(%) and statistical significance among experimental groups.

positive control	*		*	*		*		*	*
500 DEX			*	*					
100 OP-1	*		*	*		*		*	*



* statistically different at $p<0.05$.

Fig3. Severity of inflammation(%) and statistical significance among experimental groups.

IV. 총괄 및 고찰

치아의 재식 후에 치수 및 치주조직의 치유를 평가하기 위한 적절한 동물실험 모델의 개발은 현재까지 해결되지 않은 과제이다. 우선 실험동물이 갖추어야할 조건으로는 발치와 재식시 어려움이 없어야 하고 다루기 쉬워야 하며 이 때 얻어진 실험결과는 일관성과 재현성을 갖어야 한다. 실험동물의 구입 및 사육비용 또한 저렴하여 충분한 수를 실험에 사용할 수 있어야 한다. 한편 치아와 주위조직의 구조 및 치유능력이 인간과 친화적인 구조를 가짐으로써 그 실험결과를 인간에게도 적용 할 수 있어야한다.[26)]

상기 목적에 1차적으로 부합되는 동물로 원숭이와 beagle dog이 주로 사용되었다. Andreason과 Hjorting-Hansen[1,8)]은 vervet monkey의 전치를 발치하고 30분간 건조시킨 후 다시 재식한 결과 세 종류의 흡수유형이 8주 후에 보였다고 보고하였다. 표면, 염증성 및 대치성 흡수는 주로 치근의 corner 부위에 발생하였다. 염증성 흡수는 근관치료를 시행함으로써 예방할 수 있었으나, 표면흡수 및 대치성 흡수의 발생은 치주인대 세포의 생활력 여부에 좌우된다고 보고하였다.

즉, 치주인대 세포의 손상면적이 적을 경우에는 주위 치주인대 세포로부터 치유가 가능하여 표면흡수가 발생되는 반면 손상면적이 많을 경우에는 치유가 골수유래 세포(bone marrow derived cell)로부터 일어나기 때문에 골성유합이 발생한다고 하였다. 즉, 이 모델을 통하여 치주인대에 가하는 손상정도와 근관치료 여부에 따라 발생하는 치근흡수 유형을 조절할 수 있었다.

이처럼 vervet monkey를 사용한 모델은 잘 정립되어 있지만 구입비용과 사육비용이 너무 높다는 문제가 있으며 또 치아의 주위조직이 너무 견고하여 발치과정이 힘들다는 단점이 있다. 이해 비해 쥐와 같은 작은 동물들은 다루기도 더 쉽고 사육비용이 저렴해서 충분한 수의 동물을 이용할 수 있다.

개체간의 유전적인 일관성도 성견과 원숭이에 비해 쥐가 더 우수하여 좀더 일관성 있는 실험결과를 기대할 수 있다. 쥐는 또한 손상 받은 조직의 치유능력이 우수하여 전체 치유과정을 단기간에 관찰할 수 있다는 장점을 가지고 있다.

치아재식의 연구를 위한 실험동물 모델의 개발에 있어서 용이한 치아의 발치는 매우 중요하다. 즉 발치 과정 중에 치아와 주위조직에 가해지는 외상을 최소화해야한다. 흰쥐의 상악 제1대구치는 치근이 5개이기 때문에 부주의에 의해 치근의 파절이 생길 수 있으며 3개월 이상 된 쥐에서는 골의 견고성이 증가하여 발치가 더욱더 어려워진다. 본 연구에서는 30일된 쥐를 사용하였으며 상악 제1대구치의 다섯 개의 치근이 잘 형성되어 있었으며 치근단 ⅓에는 세포성 백악질이 축적되어 있었다. 근단공은 완전히 폐쇄되지 않았지만 주위의 치근벽은 발치 과정중에 파절되지 않을 만큼 의 두께를 확보하고 있었다.

β-ANP은 치근인대 섬유의 인장력을 감소시켜 발치를 용이하게 하여 치조골이나 주위 연조직에 가해지는 자극을 최소로 줄여준다. β-ANP은 amine oxidase를 억제하여 콜라겐의 α-사슬에서 lysyl derived aldehyde group의 형성을 저지하여 반응력이 있는 알데히드군의 감소로 콜라겐 분자의 교차 결합이 일어나지 않고 콜라겐 섬유의 인장력이 감소하게 된다.[27] 이런 작용은 특히 힘을 많이 받는 관절 부위, 근육 섬유의 종시점과 교합되는 치아의 치주인대에 두드러지게 나타난다. Barrinton [28]은 β-APN을 중지한 3일 후부터 치주인대가 다시 회복함을 보고하였고 섬유 또는 세포에 비가역적인 변화가 초래하지 않는다고 관찰하였다. 인장력 또한 교차결합이 다시 형성하면서 원 상태로 회복되었다고 보고하였다.

본 연구에서는 발치를 시행하기 전에 β-APN을 처치하여 상악 제1대구치를 최소의 자극으로 발치할 수 있었다.

재식을 위한 실험모델에서 발치과정에 의한 자극을 줄이는 것은 실험의 일관성에 있어서 매우 중요하다. Birkedal-Hansen[29] 은 Wistar 쥐의 제 1대구치를 elevator로 탈구만 시켜도 압력을 받는 부위에 표면흡수가 발생함을 보고하였고 염증성 흡수는 elevator가 위치한 제1 및 제2 대구치 사이에 발생한다고 하였다. Andreason[1,8]은 Vervet monkey 전치의 재식 후에 나타나는 표면흡수와 염증성 흡수의 topographic study에서 발치에 소요된 시간과 발치시의 힘의 영향이 흡수정도에 영향을 미친다고 하였다. 발치시간이 길어질수록 치근흡수 양상도 증가하였으며 힘을 많이 받는 corner 부위가 움푹 파이거나 편평한 부위보다 증가된 치근 흡수를 보였다고 하였다. 즉 발치시 최소의 자극은 일관성 있는 결과를 얻기

위하여 매우 중요하다. 본 실험에서는 발치시 주위조직에 최소의 자극이 가해지도록 특수 고안된 발치감자를 사용하였으며 단번에 발거되지 않고 약간의 시간이 경과된 후 발거된 치아는 실험 군에서 제외시켰다.

재식모델에서 고려해야할 중요한 요소 중에 하나가 치수의 처리 여부이다. 성견과 원숭이를 이용한 실험에서는 염증성 흡수를 예방하기 위해 재식 후 1-2주 내로 근관치료를 시행하였다. Kwon[30]등은 흰 쥐의 근관치료가 불가능하다하여 치근단공을 paraffin wax으로 밀봉하고 만족할 결과를 보였다고 보고하였으나 이 실험 결과를 검증하기 위한 예비실험에서는 염증세포가 치근단공을 넘어서서 치근면을 따라 coronal 부위로 광범위하게 퍼져나가는 실험 표본을 여러 개 관찰할 수 있었다. 괴사된 치수를 근관내에 남겨놓은 상태에서 불완전한 밀봉제로 치근단공을 막는다는 것은 불가능 한 것으로 생각되었다.

치수처리에 있어서 생각해야할 두가지 문제는 괴사된 치수를 제거하는 방법과 생물학적으로 독성이 없으면서 밀봉 효과가 뛰어난 재료를 선택하는 것이다. 본 실험에서는 쥐치아의 제1대구치의 근심근 위에 고속용 엔진으로 치수강을 개방하고 #40-H file로 기계적인 성형 (mechanical prep)을 하고 NaOCl 용액과 생리식염수로 근관내를 깨끗이 세척한 다음 건조시켜서 caviton으로 근관내를 완전히 밀봉하고 다시 한번 역 충천하였다. 3주 후에 조직학적으로 관찰결과 치근단공 주위에 약간의 염증세포가 존재하였으나 계속해서 치근면을 따라 치관부 쪽으로 번지는 염증은 존재하지 않아 이 실험 방법을 선택하였다. 좀더 완전한 방법을 선택한다면 발치 후 쥐 치아의 치관 부위와 다른 치근들은 절단한 다음 근심치근만 근관치료를 하고 caviton으로 채우면 될 것이다. 하지만 이 방법은 치근이 너무 작아 다루기 어렵고 재식시 방향 구분이 어려워 잘 못된 재식이 될 가능성이 크다. 앞으로도 쥐의 치수 및 근관을 처리하는 방법은 더 보완 될 필요가 있다.

또한 이 실험 모델에서 중요하게 고려할 사항 중 하나는 재식시 단시간 내에 주위조직에 손상을 주지 않고 재식해야 한다는 점이다. 치근 수가 5개이고 재식방향이 발치와면에 대한 수직방향이 아니기 때문에 상당한 숙련자가 아니면 실험결과의 오차가 클 수밖에 없다. 이번 실험에서는 본 실험이 들어가기 전에 충분한 예비실험을 하였다. 발거한 후에 발치와를 면봉으로 압력을 주어 완전히 지혈

시킨 다음 5개의 발치와를 확인하고 단시간 내에 재식하였고 재식시 약간의 주저(hesitation)가 있었던 표본은 실험에서 제외시켰다.

치주인대를 제거하는 방법에 따라서 치주인대의 치유양상 및 치근흡수의 양상에도 큰 차이가 존재할 수 있다. 치주인대를 제거하는 방법에는 크게 5가지 방법이 있다.

첫째는 치근활택술을 시행하거나 bur로 치주인대를 손상시키는 것으로 기계적인 치주인대 제거방법이다. Zervas[31]는 성견의 치아를 발치하고 Gracey curette으로 치주인대 세포를 제거한 후 재식한 결과 3일 후에 치주인대가 먼저 치근단 ⅓의 백악질에 연결되고 조직내에는 적혈구, 다형핵 림프구들이 다량 관찰된다고 하였다. 14일째에는 염증성 흡수가 진행 중이었으며 골성유합도 발생됨을 보고하였다. 56일에는 염증성 흡수가 중지되거나 새로운 백악질로 대치되었다. Bucher[32]는 재식된 원숭이의 전치에서의 치주인대 부착을 관찰하기 위해 치주인대 세포를 여러 가지 방법으로 제거하였는데 그 중에서 Chayes stone으로 치근의 유기질을 제거한 경우에는 치주인대의 부착이 발생하였으며 전 치근면에 골성유합 또는 염증성 흡수가 관찰되었다고 하였다.

두 번째 방법은 치아를 건조시키는 것으로 Andreason[33]은 Green Vervet monkey에서 발치 후 즉시 재식한 치아와 18분간 건조시킨 후 재식한 치아의 치유양상을 비교하였다. 치주인대는 2-4주내로 치유되었고 표면흡수는 1주일 후부터 시작하였으며 2주째 최대치를 보이다가 4주 및 8주 후에는 경미하게 증가되었다. 염증성 흡수도 1주일 후부터 관찰되었지만 시간이 경과되면서 감소하였다. 즉시 재식한 치아에서도 세 종류의 흡수가 관찰되었으며, 단지 염증성 흡수와 대치성 흡수의 발생빈도는 18분간 건조시킨 치아에서 더 높았다고 보고하였다.

셋째로 열을 가하여 치주인대 세포를 제거할 수 있다. Butcher[22]는 60℃의 뜨거운 물을 사용하였으며 Atrizadeh[34]는 근관을 통하여 열을 적용시킨후 치주인대의 괴사를 유도한 후 골성유합의 발생과정을 관찰하였다.

네 번째는 cold를 적용시키는 것으로 Wesselink[35]는 쥐의 하악에 액체 질소를 적용시켜 치주인대 및 주위조직에 무균성 병소를 유도한 후 골 흡수 및 골성유합이 일어나는 과정을 보고하였다. 초기에는 괴사된 치주인대 주위로 섬유아세포와

대식세포를 관찰할 수 있었으며 3일 후에는 백악질 상으로 mineral crystallite가 침전되면서 4-6μm 두께의 무정형층이 형성되었다고 보고하였다. 7-12일 사이에는 무정형의 층이 분해 및 탐식되었으며 최종적으로는 광법위한 치근흡수가 발생하였고 드물게 골성유합도 관찰되었다고 보고하였다.

마지막으로는 약제를 사용하여 치주인대를 제거하는 방법으로 Butcher[32]는 formalin과 alchol을 ,Hellsing[36]등은 10% Dakin's용액을 사용하였다. Dakin's 용액 5분간 처리했을 때 2주후에 골성유합이 발생하였으며 6주 후에는 골 흡수가 진행되어 치아가 소실되었다고 보고하였다.

본 실험에서는 발거 후 치근면에 붙어있는 치주인대를 기계적인 방법으로 제거하지는 않았고 1분정도 citric acid에 담그었으며 외부에 있는 총 시간을 30분으로 하였다. 또한 근관 치료시 기계적인 성형(mechanical prep)을 실시한 후 세척제로 NaOCl 용액과 생리식염수가 사용되었는데 이때 치근면도 2-3번 정도 이용액들에 의해 세척되었다. 재식되었을 때 치근면에는 제거되지 않은 치주인대 잔사가 남아있을 수 있을 것이라고 예상되었다. 이는 양성대조군의 여러 개의 표본에서 치근면을 따라 존재하고 있는 염증세포 및 활동성의 염증반응으로 알 수 있었다. 이런 실험모델을 만든 이유는 재식 후 DEX과 OP-1의 농도에 따른 새로운 백악질과 치주인대의 재형성 효과 및 항염증 반응과 전신적으로 tetracycline을 투여 할 경우 치주인대의 염증과 초기 치근 흡수방지 효과를 관찰하기 위함이었고 치주인대 잔사로 야기되는 염증반응에 대해서는 DEX와 OP-1 모두에서 고농도가 저농도보다 항 염증반응 효과가 뛰어났다. 또한 전신적으로 tetracycline을 투여한 군과 투여하지 않은 군을 비교하면 저농도(DEX 500nM/ml, BMP 100μg/ml) 군에서는 TC를 투여한 군이 항 염증효과가 뛰어남을 알 수 있었고 고농도(DEX 1000nM/ml, BMP 500μg/ml)군 에서는 투여한 군과 그렇지 않은 군 모두에서 항 염증효과가 뛰어났다.

치아 재식후 항생제에 대한 항 염증효과에 대한 고찰은 1986년 Ham-marström이[7]원숭이에게 penicilline을 근육주사로 주입한후 관찰한 것으로부터 시작되었다. 그는 penicilline이 치근 표면과 치수내의 박테리아를 제한할 수 있는 능력이 있다고 기술하였다. Tetracycline은 지속시간이 긴 항 염증효과 때문에 치주질환에

서 널리 사용되어 왔다.[37]최근에 이 약제는 항 염증능력 뿐만 아니라 항 흡수(anti-resorptive)효과가 있음이 밝혀졌다.[38] 특히 이 약제는 골 흡수를 야기하는 파치세포와 collagenase에 직접 작용한다.[39,40,41,42] 이런 효과 때문에 골 흡수를 제한하는 데 있어서 penicilline보다 tetracycline이 효과적이다. 이 실험에서는 doxycycline보다 반감기가 긴 tetracycline hydrochloride를 선택하였다.

저농도 군에서는 tetracycline의 영향으로 치주인대에서의 초기 염증반응과 치근단공에서의 염증반응이 많이 감소됨을 알 수 있었다. 고농도 군에서는 DEX와 OP-1의 항 염증 효과도 있었겠지만 염증반응이 일어나기 전에 새로운 백악질과 골형성이 빠르게 일어나서 전체적으로 염증세포가 저 농도군에 비교해서 현저히 줄어듬을 알 수 있었다.

Citric acid 등으로 치근 표면을 탈회시키면 표면의 collagen을 노출시켜서 attachment fibronection과 같은 부착요소가 안착할 수 있게 하고 섬유아세포 이동(migration)과 collagen 합성 등이 일어나게 하여 치주재생에 큰 기여를 한다고 보고되어왔다.[43,44,45,46] 본 실험에서도 이런 목적과 더 좋은 실험용액의 침투 및 저류를 위해 citric acid를 사용하였다.

그러나 Gaston[47]등은 쥐에 periodontal window를 만든 다음 35% phosphoric acid로 치근을 탈회 후 BMP-2를 바른 다음 10일 후에 희생시켜 관찰한 결과, 산처리를 한군이 하지 않은 군에 비해서 골 유합이 많이 발생하였다고 보고하였다. pH가 낮은 산으로 치근면을 탈회시킬 경우에 조골화세포(osteoblast)의 glycolysis와 collagen의 합성,alkaline phosphatase 생산이 감소한다고 보고되고 있고, 낮은 pH는 국소적인 조직 괴사를 일으킬 수 있으며 extracellular matrix의 조절기능을 수정되게 할 수 있다는 보고도 있다.[48] pH가 낮은 산에 의한 치근탈회 후 골 유합 발생정도에 관한 연구는 계속 되어서 치아 및 주위조직에 해를 주지 않고 재형성에 도움을 줄 수 있는 산의 종류 및 적정한 pH가 선별되어야 할 것이다.

DEX는 염증반응의 해로운 작용을 감소시키기 위하여 널리 사용되어 왔다. 이 약제는 파치세포에 의한 골 흡수를 감소시킨다고 알려져 왔다. DEX는 대식세포의 활성화를 억제하여 IL-1, TNF α,IL-6 그리고 prostaglandin 생성에 영향을 미친다.[49,50]이런 효과들은 활성화된 대식세포의 기능적인 능력(capacity)에 크게 관여하

는 단백질의 gene-coding와 연관된 mRNA의 감소를 갖고 온다.[51] DEX의 장기간의 전신적인 투여는 골 부피 (bone mass)의 감소를 갖고 온다고 알려져 있다. 그럼에도 불구하고 국소적인 DEX의 적용은 파치세포의 골 흡수를 감소시키는 것으로 나타났다.

DEX의 골 흡수 방지에 대한 기전은 2가지로 생각해 볼 수가 있다. 첫째는 직접적인 수용체 조절(receptor mediate)에 의한 방법과 파치세포들에 대한 세포독성(cytotoxicity)에 의해 이들 세포수를 감소시키는 것이다.[52,53] 두 번째 방법은 이런 세포들에 대한 calcitonin 수용체를 향상시켜서 골을 흡수하는 기능을 갖고 있는 호르몬의 전체 농도를 낮춘다는 것이다.[54]

Sae-Lim 과 Trope[13] 등은 재식된 치아의 치주치유 능력을 관찰하는 실험에서 국소적으로 DEX를 적용시켰을 때와 전신적으로 적용시켰을 때를 비교하였는데 의외로 국소적으로 적용시켰을 때가 치주의 치유와 치근 흡수방지에 더 좋은 효과를 나타내었는데 전신적으로 투여했을 때에 좋지 않은 결과가 나온 이유를 크게 두 가지로 설명하였다. 하나는 전신적으로 볼 때는 높은 농도이나 해당 염증조직에 있어서의 local 농도로는 충분한 치료효과의 수준에 이르지 못한 것 같다는 것이고 두 번째로는 DEX를 전신적으로 투여하게 되면 소장의 calcium 흡수가 감소하게 되고 이것은 pituitary hormon의 생산을 증가시켜 국지적인 효과를 가리게(mask)되고 전체적으로 골 흡수 능력이 증가되게 한다고 언급하였다. 본 실험에서는 500nM/ml 와 1000nM/ml를 사용하였고 농도 증가에 따라 염증 반응이 감소하였으며 새로운 골의 생성이 늘어났으며 치아와의 유착이 많이 나타났다.

Bone morphogenic protein(BMP)은 1965년 Urist에 의해 처음 발견된 이후 치의학에서는 주로 치주 영역에서 많이 연구되어 왔다.1988년 Dhaarmini[52]등은 치아를 발거하지 않은 상태에서 periodontal window를 쥐의 제1대구치에 형성한 다음 collagen matrix를 운반자로 해서 BMP를 인공적으로 만든 손상부위에 넣고 시간 경과에 따라 순차적으로 희생한 다음 조직학적으로 관찰하였다. 초기에는 골의 부피가 늘어났으나 골 융합은 거의 발생하지 않았고 결과적으로 치주 인대의 두께도 변하지 않았다고 기술하였다. 1996년 Ripamonti [54]등도 원숭이에서 제1대구치에 classⅢ furcation defect를 만들고 BMP를 적용한 실험에서 60일 후 희생하

고 관찰한 결과 새로운 백악질과 치주인대의 재형성 그리고 기능적으로 Sharpey's fiber가 새로운 백악질에 삽입됨을 발견하였다고 보고하였다. 그리고 1994년 Reddi [55]등은 BMP들이 상아질과 치주조직의 재형성에 사용될 수 있다고 보고하였고, 1994년 Ripamonti [23]등은 BMP들이 치주인대의 항상성 유지에 큰 기여를 한다고 보고하였다. 1995년 Sigudsson [56]등은 BMP-2를 국소적으로 도포하였을 경우 골 형성을 향상 시킨다고 보고하였다.

보고된 많은 논문들이 주로 치아를 발거하지 않은 상태에서 치주조직에 상처를 주고 BMP를 바른 다음 치주 조직의 치유능력을 관찰한 실험이었다. 그러므로 본 실험에서는 치아발거후 치근 표면의 치주인대 세포들을 거의 제거한 다음 BMP를 도포하여 재식 후에도 BMP가 위와 같은 치유능력을 나타낼 수 있는가를 알아보기 위하여 앞에 언급한 실험 모델을 사용하였다.

BMP 계열 중에 하나인 OP-1을 농도를 달리하여(100㎍/ml, 500㎍/ml) 치근 표면에 도포한 후 3주 후에 희생하고 관찰하였다. 양성 대조군과 비교하면 농도에 따라 골 부피가 증가하였고 치근흡수도 현저히 줄어듦을 알 수 있었다. 치주조직의 재형성과 기능적인 Sharpey 섬유의 삽입도 관찰이 가능하였으나 농도가 높아짐에 골 유합이 많이 발견되었다. OP-1군 모두에서 골 유합의 특징은 치근이 흡수되면서 유합이 발생하는 것이 아니라 기존의 백악질 위에 직접 유합되는 경유가 많았다. DEX를 도포한 군에서도 고농도에서는 이와 비슷한 특징을 나타내었다. 이와 이에 대하여 Andreason [4]은 골 유합에 대하여 2가지 유형을 언급하였는데 하나는 solid plate가 intact한 백악질과 결합하는 것이고 두 번째는 solid plate가 흡수된 백악질이나 상아질과 융합하는 것이었다. 하지만 이런 2 가지 골 유합의 기전에 대해서는 밝히지 못하였고 전자와 후자의 장기간 예후에 대해서도 설명할 수 없었다. Wesselink[57]등은 골 유합은 재식 후의 저작력에 의해 치유 과정이 변할 수 있다고 하여 기능적인 저작력이 골 유합을 감소시킬 수 있다고 언급하였다. 이들은 특정의 골 융합은 일시적인 과정의 일 부분이고 치주재생이 뒤따라 일어날 수 있으며 치유과정은 기능적인 저작력에 의하여 가속화 될 수 있다고 언급하였다. Gaston N [47]등은 wister rat의 치주조직에 상처(periodontal defect)를 만든 다음 한 군은 정상 교합이 일어나도록 하고 비교군은 상대 치아를

발거하여 저기능(hypofunction)의 저작력이 주어지도록 한 다음 10일 뒤와 35일 뒤에 조직학 적으로 관찰한 결과 초기에는 양쪽 모두에서 일시적(transient) 골 융합이 증가하나 35일 뒤의 정상 교합군에서는 transient ankylosis가 사라진다고 언급하였다. 그는 초기 치유시의 기능적인 저작력은 치유에 큰 도움을 주지 못하나 어느 정도의 골이 재형성 된 다음에는 저작력이 골 융합 방지에 큰 도움을 준다고 언급하였다. 여기서 언급한 일시적인 골 융합은 앞에서 언급한 백악질 위로 직접 부착된 골유합 일 수도 있고 초기에 급속하게 생성되는 골과 비슷한 종류의 백악질 일 수도 있을 것이다. 전 자의 경우라면 본 실험에서 5주에서 6주 정도 후에 희생하여 조직학적으로 관찰하였다면 골 유합이 많이 감소 할 수도 있었을 것이다. 또한 기능적인 교합력에 대한 효과에 대한 비교를 위해서는 한쪽 부위는 상대악 치아를 발거하거나 실험 치아를 침잠(sub-merging)하여 장기간으로 관찰해 보면 가능하리라 생각된다. 통계학적인 유의차는 없었으나 OP-1에 비해서는 DEX로 처치한군에서 더 많은 골 유합이 나타났으며, 고농도의 OP-1으로 처치한 군에서는 골 유합 없이 치주재생이 일어나는 부위가 많이 관찰되었다. 앞으로의 연구 방향은 이런 DEX나 OP-1약제 등에 반응하는 것이 치주계 (Periodotium)의 세포 중에서 어느 것이냐 하는 문제를 규명해야 한다. 이 문제를 해결하기 위해서는 치주인대, 백악질 , 치조골의 세포구성요소(cellular component)를 정확히 해부해야 하고 in vitro에서 이런 약제들의 조절효과에 관한 연구가 완전히 이루어져야한다. 또한 최근에 치주재생에 관한 연구에 각광을 받고 있는 성장 호르몬(PDGF,TGF-β,bFGF,EGF,IGF-Ⅰ,CGF)에 대한 연구 및 치근 흡수를 억제시키기 위하여 DEX나 OP-1등과의 복합적인 적용방법 또한 연구되어야 할 것이다.

Ⅴ. 결 론

본 연구는 30분간 자연건조 시킨 쥐 치아의 치근표면에 DEX와 OP-1을 도포한 후 재식하여 골 및 백악질의 재 형성과 치주재생 및 치근 흡수 방지효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 활동성 치근 흡수의 정도는 고농도의 DEX(1000nM/ml)군과 OP-1(500ug/ml)이 저농도의 DEX(500nM/ml)군과 OP-1(100ug/ml)군에 비해서 유의성 있게 낮았다($p<0.05$).

2. 골유합 정도는 고농도의 DEX(1000nM/ml)군이 저농도의 DEX(500nM/ml)와 OP-1(100㎍/ml)군보다 유의성 있게 높았고($p<0.05$), 고농도의 OP-1(500㎍ml)군은 저농도의 DEX(500nM/ml)와 저농도의 OP-1(100㎍/ml)군보다 높게 나타났으나 통계학적인 유의차는 없었다.

3. 염증정도는 고농도의 DEX군과 OP-1군이 저농도의 DEX군과 OP-1군 보다 유의성 있게 낮게 나타났다($p<0.05$). Tetracycline에 대한 효과는 저농도의 OP-1군과 저농도의 500DEX군에서 투여하지 않은 군보다 투여한 군에서 염증정도가 유의성 있게 낮게 나타났다($p<0.05$).

이상의 결과를 토대로, 고농도의 OP-1(500㎍/ml)이 치근흡수, 염증정도에서 가장 우수하였고, 골유합은 많이 나타났으나, 조직학적인 관찰결과 치주 재생 능력면에서도 가장 뛰어나다는 결론을 얻을 수 있었다.

참고문헌

1. Andreasen J.O. : Analysis of pathogenesis and topography of replacement root resorption(ankylosis) after replantation of mature permanent incisors in monkeys, Swed dent J, 4 : 231-240, 1980.
2. Andreason JO, Hjörting-Hansen E. Replantation of teeth. Ⅰ .Radiographic and clinical study of 110 human teeth replanted after accidental loss. Acta. Odontol. Scand.,24:263-286, 1966.
3. Lindskog S. et al. : The role of necrotic periodontal membrane in cementum resorption and ankylosis , Endo Dent Traumatol, 1 : 96-101, 1985
4. Andreason JO, Hjörting-Hansen E. Replantation of teeth.Ⅱ. Histological study of 22 replanted anterior teeth in human. Acta. Odontol. Scand. 24:287-306, 1966.
5. Andreasen J.O. : A time-related study of periodontal healing and root resorption activity after replantation of mature permanent incisors in monkeys, 4 : 101-110, 1980.
6. Andreasen J.O. : Relationship between cell damage in the periodontal ligament after replantaion and subsequent development of root resorption, Acta Odontol Scand, 39 : 15-25, 1981
7. Hammarstrom L., Blomlof L., Lindskog S. : Replantation of teeth and antibiotic treatment, Endod Dent Traumatol, 2:51-7 1986.
8. Andreason JO: Analysis of topography of surface and inflammatory root resorption after replantation of mature permament incisors in monkeys. Swed. Dent. J.,4:135-143, 1980.
9. Tronstad L. : Root resorption-etiology, terminology and clinical manifestation, Endo Dent Traumatol, 4 : 241-252, 1988

10. Andreason JO: The effect of extra-alveolar period and storge media upon periodontal and pupal healing after replantation of mature permament incisors in monkeys. Int. J. Oral. Surg., 10:43-53, 1981.
11. Andreason JO, Andreason FM: Textbook and colar atlas of traumatic injuries to the teeth, 3rd ed, Copenhagen and St Louis, Munksgaard and Mosby, p13-180, 1994.
12. Sae-Lim V, Wang CY, Choi GW, Trope M: The effect of systemic tetracycline on resorption of dried replanted dogs teeth. Endodont. Dent. Traumatol., 14:127-132, 1998.
13. Sae-Lim V, Metzger Z, Trope M. Local dexamethasone improves periodontal healing of replanted dogs′ teeth. Endod Dent Traumatol 1998; 14: 232-236. 1998
14. Mcculloch CAG, Tenenbaum HC, Dexamethasone Induce Proliferation and Terminal Differentiation of Osteogenic Cells in Tissue Culture, The Anatomical Record 215:397-402, 1986.
15. Urist MR. Bone formation of autoinduction. Science , 150:893-899, 1965.72. 9
16. Urist MR, Strates BS. Bone morphogenic protein. J. Dent. Res., 50:1391-1406, 1971
17. Reddi AH, Huggins CB. Biochemical sequences in the transformation of nomal fibroblasts in adolescent rats. Proc. Natl. Acad. Sci., USA 69:1601-1605, 1972.
18. Tobias J, Chambers JT, Glucocorticoids impair bone resorption activity and viability of osteoclasts disaggregated from neonatal rat long bone. Endocrinology 1989:125:1290-5.
19. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ.Novel regulationof bone formation Molecular clons and activities. Science , 242:1528-1534, 1988.
20. Noda M. Signalling in osteoblastic differentiation. Experimental medicine, 15: 169-177, 1996

21. Aldinger G, Herr G, Kussewetter W. Bone morphogenic protein. a review Int. Orthop., 15:169-177, 1991.

22. Ripamonti U, Reddi AH. Tissue engineering morphogenesis, and regeneration of the periodontal tissues by bone morphogenic proteins. Crit. Rev. Oral Biol.Med.,8:154-163, 1997.

23. Ripamonti U., Heliotis M., Van den Heever B., and Reddi A. H. (1994) Bone morphogenetic proteins induce periodontal regeneration in the baboon (papio ursinus) J. Pero. Res. 29, 438-445.

24. King GN, King N, Hughes FJ. The effect of root surface demineralization on bone morphogentic protein-2-induced healing of rat periodontal fenestration defects.J periodontol 1998;69:561-570.

25. Rajashankar D, McCulloch CA, Tenenbaum HC, Lekic PC. Osteogenic inhibition byrat periodontal ligament cells: modulation of bone morphogenic protein-7 activity in vivo. Cell Tissue Res., 294:475-483,1998.

26. Salen J.C.W. : Animal models-Principles and problems, CRC Press, 1-6, 1994

27. Bornstein P. : The cross-linking of collagen and elastin and its ingibition in osteolathyrism, Am J Med, 49 : 429-432, 1970

28. Barrington E. P., Meyer J. : Recovery of the rat dental organ from experimental lathyrism, 11-25, 1967

29. Birkedal-Hansen H. : External root resorption caused by luxation of rat molars, Scan J Dent. Res, 81 : 47-61, 1973

30. **권소란, 금기연, 이승종 : 쥐치아 재식 모델에서 치주인대의 처리방법에 따른 치주조직의 치유와 치근 흡수에 관한 연구, 대한 보존학회지** vol25, No.3, 338-358, 2000

31. Zervas P., Lambrianidis T., Karabouta-Vulgaropoulou I. : The effect of citric acid treatment on periodontal healing after replantation of permanent teeth, Int Edo. J, 24 : 317-325, 1991

32. Butcher E. O., Vidair R.V. : Periodontal fiber reattachment in replanted incisors of the monkey, J Dent Res, 34 : 569-576, 1955
33. Andreason JO, Kristerson L. : The effect of limited drying or removal of the periodontal ligament, Acta Odontol Scand, 39 : 1-13, 1981
34. Atrizadeh F., Kennedy J., Zander H. " Ankylosis of theeth following thermal injury, J Periodont Res, 6 : 159-167, 1971
35. Wesselink P. R., Beertsen W., Everts V. : Resorption of the mouse incisor after th e application of cold to the eperiodontal attachment-apparatus, Calcif Tissue Int, 39 : 11-21, 1986
36. Hellsing E., Alatli-Kut I., Hammarstrom L. : Experimentally induced dentoalveolar ankylosis in rats, Int Endo J, 26 : 93-98, 1993
37. Bjorvatn K, Skaug N, Selvig KA. Tetracycline-impregnated enamel and dentin: Duration of antimicrobial capacity. Scan J Dent Res. 1985:93:192-7.
38. Chang KM, Ramamurthy NS, McNamara TF, Evans RT, Klausen B, Murray PA, et al. Tetracyclines inhibit Porphyromonas Gingivalis- induced alveolar bone loss in rats by a non-antimicrobial mechanism. J Periodontal Res. 1994;29(4):242-9.
39. Golub LM, Ramamurthy N, McNamara TF, Gomes B, Wolff M, Casino et al. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity- a newachanism of treatment of periodontal disease. J Periodontal Res. 1984;19:651-5.
40. Keller DC, Carano A. Teetracycline efect on osteoclastic and osteoblastic activity. Gen. Dent 1995;43(1):60-3.
41. Yu Z, Ramamurthy NS, Leung M, Chang KM, McNamara TF, Golub LM, Chemically-modified tetracycline normalizes collagen metabolism in diabetic rats: a dose-reponse study. J Periodontal Res 1993;28:420-8.
42. Zaidi M, Moonga BS, Huang CL, Towhidul Alam AS, Shankar VS, Pazianas M, et al. The effect of teteracyclins on quantitive measures od osteoclast morphology. BioSci Rep 1993;13(3):175-82.

43. Garret SJ, Crigger M, Egelberg J, Effects of citric acid on diseased root surfaces, J Periodont Res 1978;13:155-163.

44. Hanes PJ, Polson AM, Ladenheim S, Cell and fiber attachment to demineralized dentin from normal root surfaces. J Periodontol. 1985;56:752-765.

45. Polson AM, Frederic GT, Ladenheim S, Hanes PJ. The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. J Periodontol 1983;55:443-446.

46. Polson AM, Hanes PJ, Cell and fiber attachment to demineralized dentin. A comparison betwwen normal and periodontitis-affected root surfaces. J Clin periodontol 1987;14:357-365.

47. Gaston N, King and Francis J, Effects of occlusal loading on ankylosis, bone, and cementum formation during bone morphogenic protein-2-stimulated periodontal regeneration in vivo, 70: 1125-1135, 1999.

48. Ramp WK, Lenz LG, Kaysinger KK. Medium pH modulates matrix mineral and energy metabolism in cultured chick bones and osteoblast-like cells. Bone Min 1994;24:59-73.

49. Knudsen PJ, Dinarello CA, Storm TB. Glucocorticoids inhibit transcriptional and post-transcriptional expression of interleukin 1 in U937 cells. J Immuunol. 1987;139:4129-34.

50. Waage A, Slupphaug G, Shalaby R, Glucocorticoid inhibit the production of IL 6 from monocytes, endothelial cells and fibroblasts. Eur J Immunol 1990;20:2439-43

51. Politis AD, Sivo J. Driggers PH, OzatoK, Vogel SN. Modulation of interferon consensus sequence binding protein mRNA in murine peritoneal macrophage. Induction by INF-γ and down regulation by INF-α, dexamethasone and protein kinase inhibitors. J Immunol 1992;148:801-7.

52. Dhaarmini Rajshankar, Christopher A.G. Osteogenic inhibition by rat

periodontal ligament cells:modulation of bone morphogenic protein -7 activity in vivo, Cell Tissue Res 294:475-483, 1998.

53. Wada S, Udagawa N, Akatsu T. Nagata N, Martin TJ, Findlay DM. Regulation by calcitonin and glucocorticoids of calcitonin receptor gene expression in mouse osteoclasts. Endocrinology 1997;138:521-9
54. Ripamonti U , Heliotis M, Induction of cementogenesis by recombinant human osteogenic protein-1 in the babbon, Arches oral Biol 41:121-126, 1996.
55. Reddi A. H. (1994) Bone and cartilage differentiation Can. Opin. gen. Dev. 4,737-744.
56. Sigurdsson TJ, Lee MB, Periodontal Repair in Dogs: Recombinant Human Bone Morphogenic protein-2 Significantly Enhances Periodontal Regeneration, J. Periodontol 66: 131-137, 1995.
57. Wesselink PR, Beertsen W. Repair processes in the periodontium following dentoalveolar ankylosis: the effect of masticatory function. J Clin Periodontol 1994;21:472-478

사진부도 설명

Figure 4-a A photomicrograph showing periodontium in rat molar of immediately replantation (× 40)

Figure 4-b The PDL contains numerous fibroblast (FB) oriented obliquely from the alveolar bone to the root surface. Acellular cementum is lining the coronal part of root (×100).
(blue arrow indicates hypercementosis)

Figure 5-a A photomicrograph showing periodontium in rat molar of positive control group (black arrow indicates inflammation)(×100).

Figure 5-b periodontal ligament shows active resorption. There are many inflammatory cells. (black arrow indicates that inflammation cells resorb root surface)(×200).

Figure 6-a A photomicrograph showing periodontium of 500nM/ml DEX treated rat molar (blue arrow indicates that inflammatory cells resorb root surface)(×100).

Figure 6-b Active resorption with many inflammatory cells and cementum repair along the root surface can be observed.
The alveolar bone shows multiple Howship′lacunae and osteoclasts.(×200).

Figure 7-a A photomicrograph showing periodontium of 500nM/ml DEX with tetracycline treated rat molar (black arrow indicate that osteoclast resorb root surface) (×100).

Figure 7-b Active resorption and replacement resorption can be observed osteoid matrix directly attach to the cememtum of root
Plump osteoblast-like cells seem to surround an isolated osteoid matrix(×200).

Figure 8-a A photomicrograph showing periodontium of 1000nM/ml DEX treated rat molar (blue arrow indicate active replacement resorption)(×100).

Figure 8-b Active replacement resorption can be observed(×200).

Figure 9-a 1000nM/mlDEX group, 1000nM/mlDEX group with systemic tetracycline group(×100).

Figure 9-b Entire bone directly attach to the cememtum of root without root resorption. Osteocytes are arrested by bone(blue arrow indicate active replacement resorption)(×200).

Figure 10-a A photomicrograph showing periodontium in rat molar of 100μg/ml OP-1 group(×100).

Figure 10-b Active root resorption can be observed
Multiple osteoclasts(black arrow)are located ar root surface forming large resorption cavities . also note the osteoclastic activity in the alveolar bone at this level(×200).

Figure 11-a A photomicrograph showing periodontium of 100μg/ml OP-1 group with tetracycline treated rat molar(×100).

Figure 11-b Inflammatory cells can be observed at root apex area. (black arrow indicate that osteoclasts resorb root surface (×200).

Figure 12-a A photomicrograph showing periodontium of 500μg/ml OP-1 treated rat molar(×100).

Figure 12-b Hyaline-like material(arrow) is deposited on the cementum of root surface. Large fibroblast like cells are incoporated in the hyaline- like material. (black arrow indicates that surface resorption is repaired by a cellular cementum)(×200).

Figure 13-a A photomicrograph showing periodontium of 500μg/ml OP-1 with tetracycline treated rat molar(×100).

Figure 13-b Hyaline-like material(black arrow) is deposited on the cementum of root surface .Large fibroblast like cells are can be observed (×200).

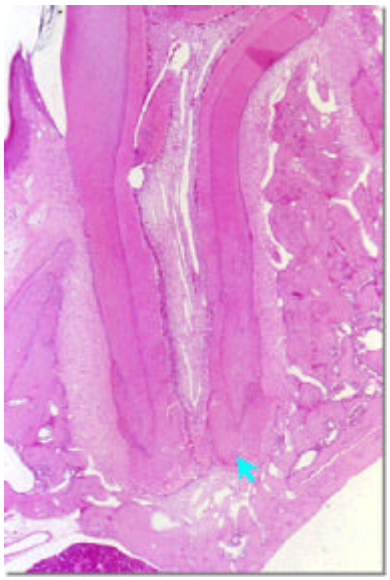


Fig 4a

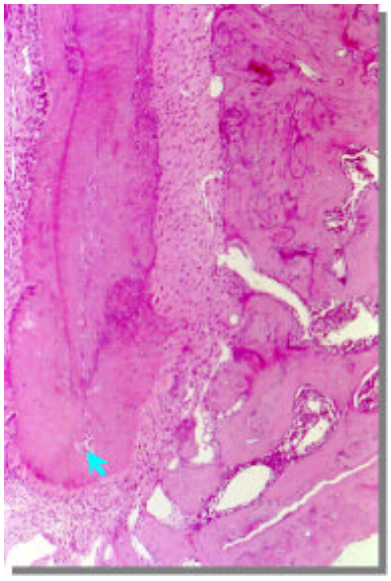


Fig 4b

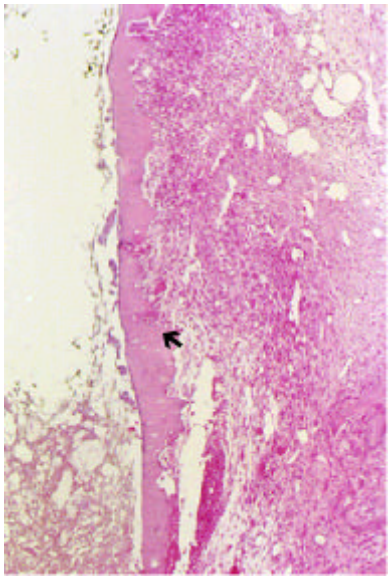


Fig 5a

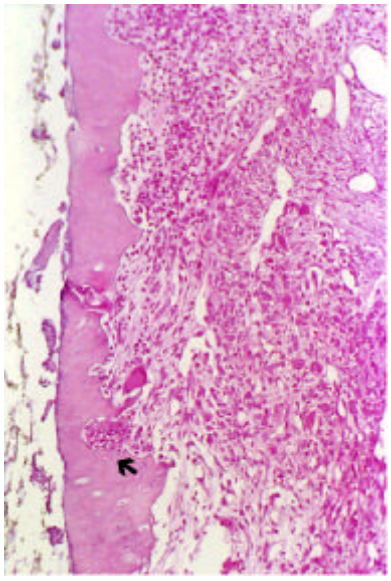


Fig 5b

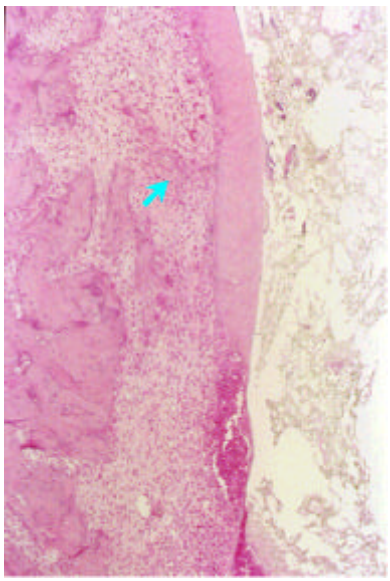


Fig 6a

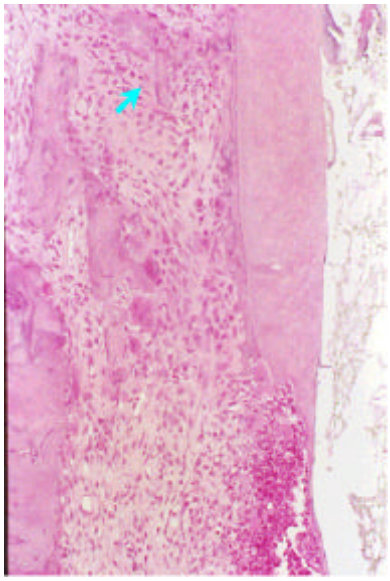


Fig 6b

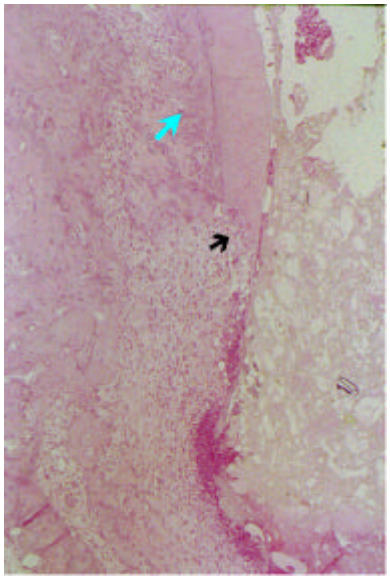


Fig 7a

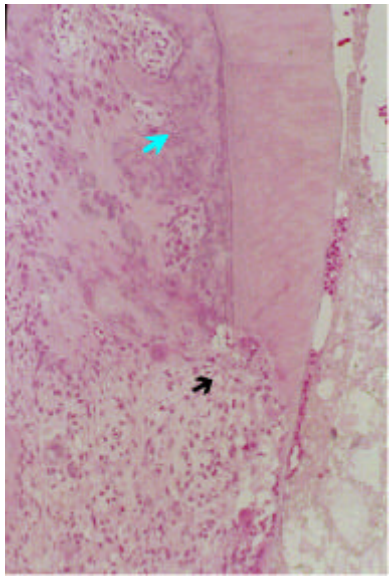


Fig 7b

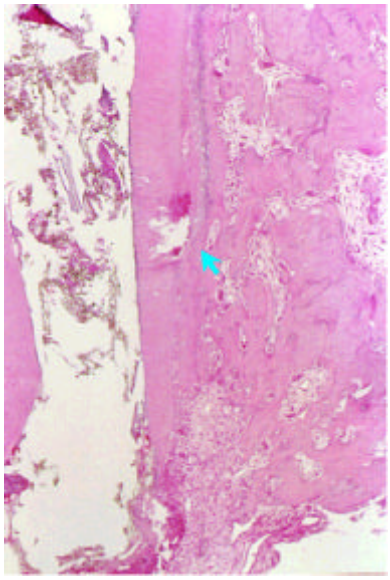


Fig 8a

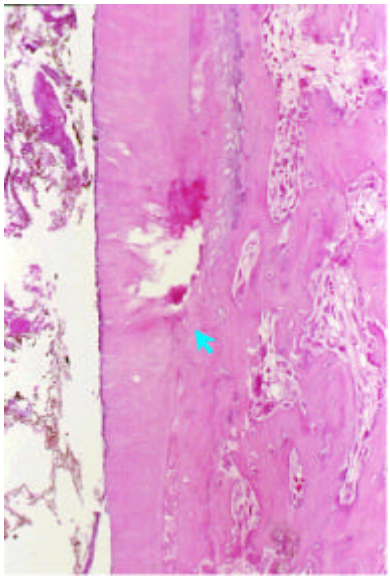


Fig 8b

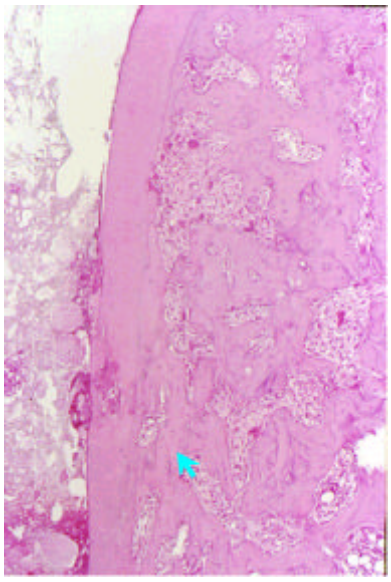


Fig 9a

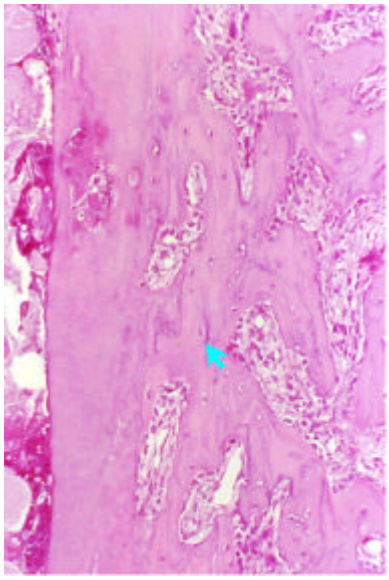


Fig 9b

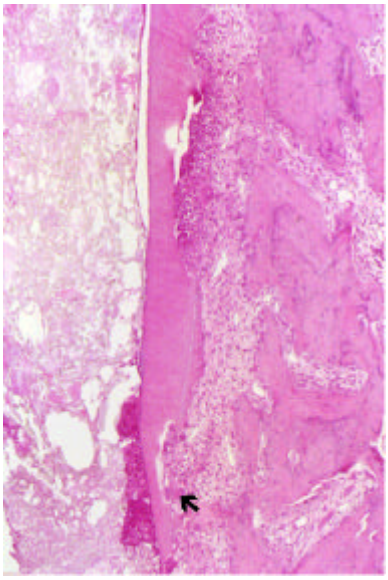


Fig 10a

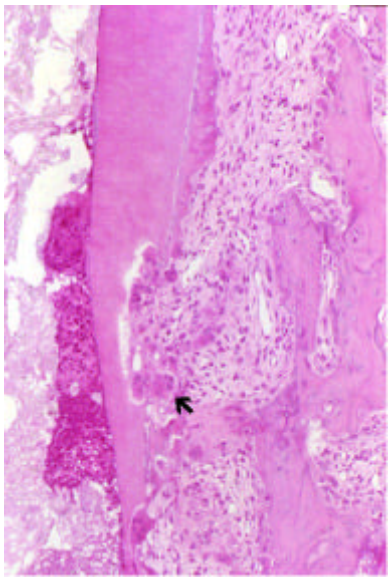


Fig 10b

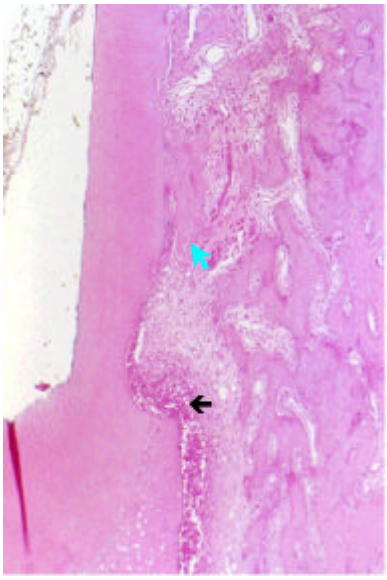


Fig 11a

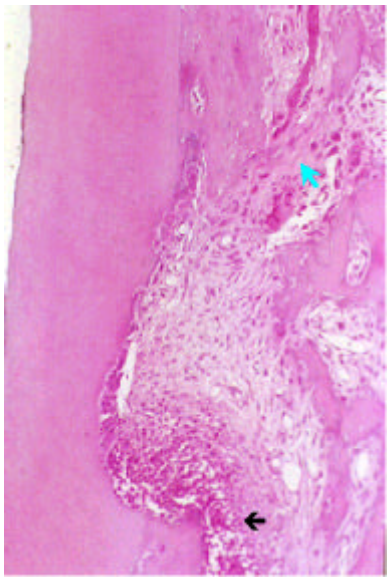


Fig 11b

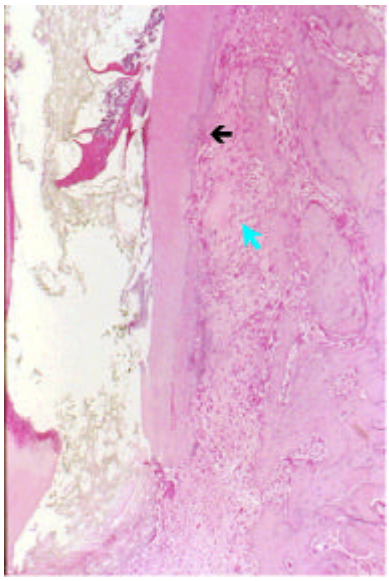


Fig 12a

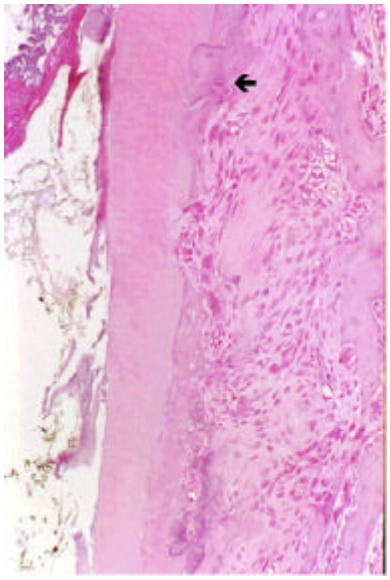


Fig 12b

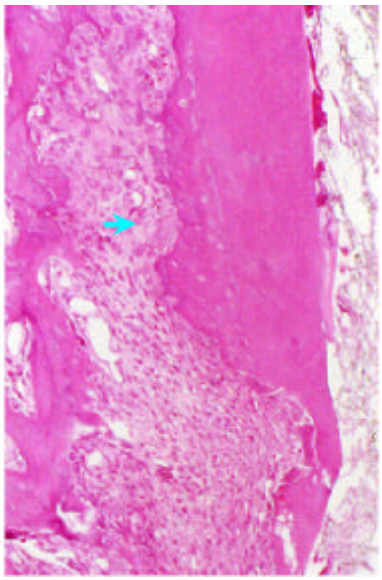


Fig 13a

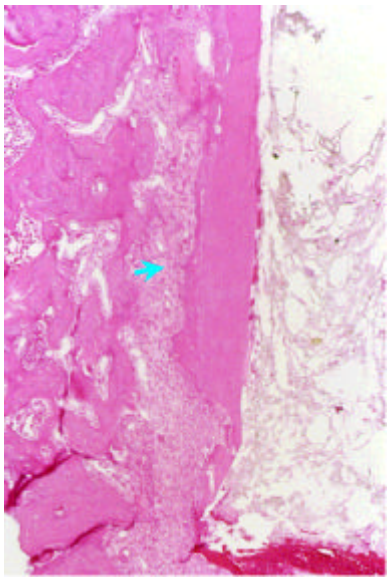


Fig 13b

Abstract

The effect of dexamethasone and osteogenetic protein-1 on periodontal healing and root resorption of the delayed replanted tooth

O-Taek, Kwon

Department of Conservative Dentistry

The graduate school, Yonsei University

The purpose of this study was to observe the effect of dexamethasone and osteogenetic protein-1(BMP-7) on bone, cementum and periodontal tissue regeneration. Also the effects of suppression of inflammation and early root resorption with antibiotics were studied.

60, 4 week old, Sprague-Dawley white mice were used. To make extraction easier, beta-aminoproprionitrile was administrated for five days. After extraction, root canal treatment was done, stored in citric acid for 1 min & washed with saline. All teeth were bench-dried, stored in the experimental solution for three minutes. Then the teeth were dried and replanted into their original sockets. All extraction and replantation procedures were done within 30 minutes. For positive controls, replantation of 30 minutes' dry only were used.

Experimental groups were Dexamethasone 500nM/ml, 1000nM/ml, osteogenetic protein-1 100㎍/ml, and 500㎍/ml. Effects by tetracycline on inflammation and early root resorption were also studied. All animals were sacrificed at 3 week following replantation. Routine H-E histologic sections were procedured.

The results were as follows.

1. Higher concentration of dexamethasone(1000nM/ml) had statistically less root resorption than lower concentration of dexamethasone(500nM/ml) and osteogenetic protein-1 (100㎍/ml)($p<0.05$).

Higher concentration of osteogenetic protein-1(500ug/ml) had statistically less root resorption than lower concentration of osteogenetic protein-1(100㎍/ml) and dexamethasone(500nM/ml)($p<0.05$).

2. Higher concentration of dexamethasone(1000nM/ml) had statistically more bone union than lower concentration of dexamethasone(500nM/ml) and osteogenetic protein-1 (100㎍/ml)($p<0.05$).

Higher concentration of osteogenetic protein-1(500㎍/ml) showed more bone union than lower concentration of osteogenetic protein-1(100㎍/ml) and dexamethasone(500nM/ml) but wasn't statistically significant.

3. Higher concentration of dexamethasone had statistically less inflammation than lower concentration of dexamethasone & osteogenetic protein-1($p<0.05$). Higher concentration of osteogenetic protein-1 had statiscally less inflammation than lower concentration of osteogenetic protein-1 and Dexamethasone($p<0.05$). Tetracycline administrated group had statistically less inflammation compared with the nonadministrated group($p<0.05$).

As the conclussion, higher concentration of osteogenetic protein-1 had the best results on root resorption, bone ankylosis and anti-inflammatory effects compared with other experimental groups.

---

keywords: periodontal healing, root resorption, ankylosis, inflammation, dexamethasone, OP-1,tetracycline