

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0018455 (43) 공개일자 2014년02월13일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61L 27/38 (2006.01) A61L 27/28 (2006.01) A61C 13/08 (2006.01) A61F 2/28 (2006.01)	(71) 출원인 조선대학교산학협력단 광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)	(72) 발명자 김수관 광주 서구 풍암중앙로 68, 104동 503호 (풍암동, 금호타운아파트)
(21) 출원번호 10-2012-0079834 (22) 출원일자 2012년07월23일 심사청구일자 2013년03월29일	(74) 대리인 송해모, 김은구	

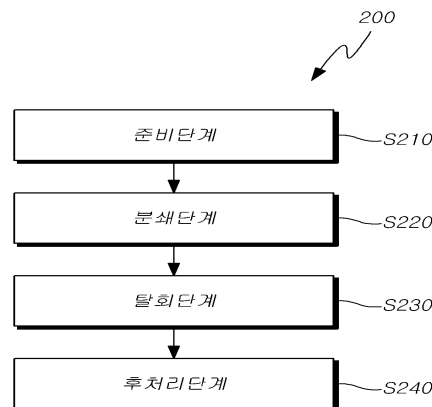
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 자가치아 골 이식재 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 자가치아 골 이식재 및 화학식 1로 표시되는 화합물을 이용한 자가치아 골 이식재의 탈회방법에 관한 것이다. 본 발명에서 자가치아 골 이식재 제작 시 화학식 1로 표시되는 화합물을 사용하여 탈회과정을 거침으로써, 종래 골 이식재에 비해서 신생골 형성 속도 증가 및 임플란트와 뼈와의 접착을 유의성 있게 개선시켰다.

대표도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 A091220

부처명 보건복지가족부

연구사업명 보건의료연구개발사업, 의료기기 임상시험센터

연구과제명 치과전문 의료기기 임상시험 프로토콜개발 및 임상시험센터구축

기 여 율 1/1

주관기관 조선대학교 산학협력단

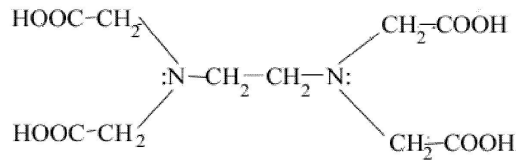
연구기간 2009.05.01 ~ 2014.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 것을 특징으로 하는 치과용 자가치아 골 이식재 제조 방법.

[화학식 1]



청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 1~3% 화학식 1로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 치과용 자가치아 골 이식재 제조 방법.

청구항 3

제 1항의 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 것을 특징으로 하는 치과용 자가치아 골 이식재.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 1~3% 화학식 1로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 치과용 자가치아 골 이식재.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 자가치아 골 이식재 및 자가치아 골 이식재의 탈회방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 최근 골분말, 골칩, 골블록 등과 같은 골 이식재를 뼈의 재생이나 수복에 이용하는 기술이 발전되고 있다. 골 이식재는 공간을 메워주고, 가교역할 및 골 치유에 중요한 역할을 하며, 또한 골 형성을 촉진시키는 골 형성 단백질(bone morphogenetic protein, BMP)을 포함하고 있어 치료를 촉진시키는 바, 정형외과, 신경외과 및 치과 등에서 사용된다.

[0003] 특히, 치과 등에서는 임플란트 시술에 다양한 골 이식재가 이용되고 있다. 치아의 상실을 회복시키기 위한 치료 방법으로 가장 먼저 고려되는 치료가 임플란트를 이용하는 것인데, 임플란트의 성공에 영향을 미치는 인자는 다른 뼈 이식술의 성공에 영향을 미치는 인자들과 유사하게, 환자의 조건, 사용한 재료의 특성, 시술자의 기술에 의하여 영향을 받게 된다. 성공률에 영향을 미치는 환자의 조건으로는 환자의 연령, 전신 질환 유무, 환자의 습관 또는 잔존 치조골의 높이나 골질 등이 있다. 재료 인자로는 재료의 직경, 길이, 형태 및 표면 처리와 같은 요소가 성공률에 영향을 미치게 된다. 시술자의 기술도 시술의 성공에 영향을 미치는 중요한 인자이다. 따라서 치과용 임플란트의 성공률을 높이기 위한 다양한 기술들이 개발되어 왔다. 비록 환자의 신체적 조건이 임플란트 시술에 이상적인 조건을 제공하여 주지 못한다고 하여도 임플란트의 성공률을 재료를 중심으로 한 기술의 발전을 통하여 획기적으로 개선할 수 있다.

[0004] 임플란트 표면은 뼈와 접촉하고 있는 주된 부위이므로, 임플란트 주위의 골 결손부에 대한 높은 골 형성을 및 뼈와 임플란트 사이의 긴밀한 접합이 성공적인 임플란트를 위한 전제 조건이다. 따라서, 어떠한 골 이식재를 사

용하느냐에 따라 골 형성률 및 임플란트와 골간의 결합에 있어 차이가 나며, 임플란트 표면을 무엇으로 처리하느냐에 따라 조골 세포의 부착과 증식 등에 차이가 나게 되어, 임플란트와 주변의 뼈 사이의 긴밀한 접합이 빠르게 일어나는지 여부가 판가름나게 된다. 일반적으로, 수산화 인회석(hydroxyapatite, HA)은 뼈를 구성하는 주 성분으로서 임플란트의 표면 처리를 위하여 많이 사용된다. 수산화 인회석에 의하여 코팅된 임플란트의 성공률에 대한 보고는 많이 나와있다. 특히, 수산화 인회석은 사람의 뼈 및 치아의 에나멜질과 동일한 성분으로 치아의 에나멜질의 결손부분에 대한 수복에 큰 효과가 있으며, 이 수복효과로 인해 치아의 원래 빛깔을 회복시켜주기 때문에 최근 치아 미백제로도 각광을 받고 있다.

[0005] 그러나, 어떠한 골 이식재를 사용하는 것이 좋은지에 대해서는 의견이 아직도 분분하다. 골 이식재는 말 그대로 임플란트 시술 시 잇몸뼈가 부족하여 식립이 불가능한 부위에 골 이식재를 넣어 뼈의 형성을 유도 혹은 뼈를 늘리는 데 쓰인다. 이를 통해 잇몸뼈가 형성되면 시술자인 치과 의사들의 임플란트 수술을 돕게 된다. 골 이식재는 현재 동종골 이식재, 이종골 이식재, 합성골 이식재, 자가골 이식재 등으로 구분할 수 있다.

[0006] 동종골 이식재란 동종의 다른 개체에서 얻은 골을 말하며, 보통 죽은 사람의 뼈에서 채취한다. 이종골 이식재란 다른 종의 동물에서 얻어진 골 조직을 채취하여 이식하는 것을 말하는 데, 주로 소나 송아지에서 추출한다. 합성골 이식재란 사람 혹은 다른 종의 동물들에게서 얻어진 것이 아닌 골 대체물과 합성물질을 이용해 만들어진 유기지지체가 제거된 재료로서, 주로 bioceramic으로 구성된다. 동종골 이식재와 이종골 이식재를 사용 시, 빠르게 굳어나가며 골질 또한 좋다는 장점이 있으나 바이러스 감염 등의 문제가 있다는 단점이 있다. 합성골 이식재를 사용 시, 구입이 간편하고 사용이 편리하다는 장점과 함께 굳어가는 속도가 느리고 골질 또한 좋지 않다는 단점을 가진다.

[0007] 한편, 자가골 이식재란 어느 다른 개체가 아닌 수술을 받게 되는 환자 본인의 골을 말하며, 구강 내 공여부나 구강 외 공여부에서 채취한다. 특히, 최근에는 환자의 발치된 치아를 가공 처리하여 골 대체재로 이용할 수 있는 자가치아 골 이식재가 소개되어 임상에 활용되고 있다.

[0008] 이러한 자가치아 골 이식재는 생체적 합성이 우수하면서 골 유도 및 골 전도에 의해 치유되고 일정기간 경과 후에는 흡수되는 양상을 보이며, 발치창 보존 혹은 재건술과 골 유도재생술에 이용되어 왔다.

[0009] 자가치아 골이식재는 현재 다양한 주제로 임상연구 및 동물실험이 진행되어 왔고, 다른 골 대체재들과 비교하였을 때 어느 정도 유사한 결과를 보여주고 있다. 또한, 임상적안정성에 대한 부분도 언급되었는데 이는 수술 후 빠른 골 치유와 창상 열 개가 관찰되어도 감염 등에 대한 저항성이 커서 효과적인 2차 치유가 가능하다는 것이었다.

[0010] 다만, 자가치아를 골 이식재로 제작하는 과정 중에는 동종골과 마찬가지로 탈회 과정이 포함되는데, 이러한 탈회 과정은 무기질 성분을 상당부분 제거하여 비탈회시와 비교함에 있어서 골 형성의 조건을 상당부분 바꾸게 되고, 이러한 변경된 조건으로 인해 골이 형성되는 시기와 골량이 달라질 수 있어, 자가치아를 골 이식재로 사용하는 데 제약을 받고 있는 실정이다.

[0011] 산 처리는 동종골의 경우에 있어서 무기질의 성분을 제거하고 골 형성 단백질 활성화를 촉진시킬 경우에 이용되며, 교원질과 비교원성 단백질만 남겨두고 무기질을 제거하게 된다. 만약 탈회를 시행하지 않는 경우는 냉동건조를 실시하여 멸균을 시행한 후 이식재로 사용하게 된다. 이러한 무기질의 탈회는 골이 재생되는 과정에서 버팀목을 하는 무기질이 제거되기 때문에 강도는 약하지만 흡수되는 시간을 절약할 수 있고 탈회하지 않는 경우에는 초기 강도는 강하지만 골 재생과정이 길어질 수 있다.

[0012] 이와 같이 동종골의 경우 탈회의 정도나 방법에 따라서 골 이식재의 골 형성 능력이 다르다는 것을 확인하는 연구들이 있었고, 인간의 골과 무기질, 유기질 성분이 유사하고 골 형성 단백질이 있다고 알려진 자가치아 골 이식재에 있어서도 동일하게 적용이 가능한데, 기존 연구에서는 산의 종류에 따른 무기질의 탈회정도에 대한 자료가 없어 각 산에 대한 탈회 효율을 평가하기가 어려웠고, 이러한 점이 자가치아 골 이식재의 단점으로 지적되고 있다.

발명의 내용

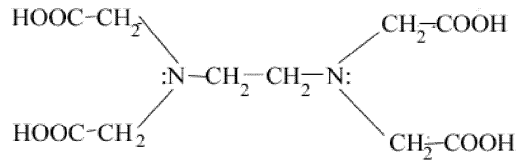
해결하려는 과제

[0013] 본 발명자들은 상기와 같은 자가치아 골 이식재의 단점을 보완하기 위하여 보다 우수한 탈회 방법을 알아내고자 연구 시험하였다. 탈회 과정에 있어서 같은 농도의 산 종류를 다양하게 조절하여 각각 같은 방법으로 탈회 처리

된 자가치아 골 이식재의 골 재생 능력을 조직학적 분석을 통해 차이를 확인하고, 이를 통계적으로 분석하여 결국, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 이용해 산 처리하여 우수한 골 형성률 및 임플란트와 골간 결합을 보이는 자가치아 골 이식재인 본 발명을 완성하였다.

[0014] 따라서, 본 발명의 목적은 치과용 자가치아 골 이식재를 제공하는 데 있다.

화학식 1



[0015]

[0016] 본 발명의 다른 목적은 상기 치과용 자가치아 골 이식재를 형성하는 우수한 탈회 방법을 제공하는 데 있다.

[0017] 본 발명의 목적, 다른 목적 및 이점은 하기 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0018] 전술한 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 것을 특징으로 하는 치과용 자가치아 골 이식재를 제공한다.

[0019] 이때, 본 발명에 사용되는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 부피%는 1~3 부피% 일 수 있고, 보다 바람직하게는 2 부피% 일 수 있다.

[0020] 다른 측면에서 본 발명은 전술한 자가치아 골 이식재의 탈회 방법을 제공하는데, 이때 사용하는 산의 종류는 1~3 부피%의 화학식 1로 표시되는 화합물일 수 있고, 보다 바람직하게는 2 부피%의 화학식 1로 표시되는 화합물 일 수 있다. 즉, 본 명세서에서 2% HCl 이라 함은 부피플라스크에 2g의 HCl(s)을 넣고 100까지 증류수를 채운 염산용액을 의미하며, 이는 본 명세서 상의 '2% H₂SO₄', '2% HNO₃', '2% 화학식 1로 표시되는 화합물' 모두에 적용된다.

[0021] 본 명세서에서 사용된 용어 "치과용 골 이식재"는 다양한 치과 질환에 의해 뼈 조직의 결손부가 생긴 경우, 이를 대체하여 뼈 조직 내의 공간을 충전시키고 신생골의 형성을 촉진시키기 위하여 사용하는 이식재를 의미한다.

[0022] 또한, 용어 "임플란트(implant)"는 상실된 자연치아의 대체물 자체를 의미하거나 또는 나사 형상의 임플란트 매식체(fixture)를 치조골에 체결하여 일정 기간 동안 뼈와 융합하도록 한 후 그 위에 교각치(abutment)와 인공 치아인 치관(crown) 등의 보철물을 고정시킴으로써 치아의 본래 기능을 회복시켜주는 치과시술을 의미하나, 본 명세서에서는 상실된 자연치아의 대체물 자체를 의미한다.

[0023] 본 발명의 치과용 골 이식재는 압착, 압축, 가압접촉, 패킹, 압박, 굳힘 등의 방법을 사용하여, 퍼티, 페이스트, 주형 가능한 스트립, 블록, 칩 등이 형태로 성형하여 사용할 수 있고, 화학적 첨가물을 이용하여 겔, 분말, 페이스트, 정제, 펠렛 등의 형태로 제형하여 사용할 수 있으며, 분말 형태 그대로 사용하는 것도 가능하다.

[0024] 상기와 같이 골 이식재를 제형하여 사용할 경우에는 생물학적 활성물질을 첨가하여 사용하는 것이 바람직하며, 상기 생물학적 활성물질로 골 성장을 촉진하는 성장인자, 골 조직 형성 증진을 유도하는 펩타이드와 단백질, 피브린, 골 형태 형성인자, 골 성장제, 화학요법제, 항생제, 진통제, 비스포스포네이트, 스트론튬염, 불소염, 마그네슘염 및 나트륨염 등을 사용할 수 있다.

[0025] 상기 성장인자로 BMP(bone morphogenic protein), PDGF(platelet-derived growth factor), TGF-beta(transgenic growth factor), IGF-I(insulin-like growth factor), IGF-II, FGF(fibroblast growth factor) 및 BGDF-II(beta-2-microglobulin) 등을 사용할 수 있다.

[0026] 상기 골 조직 형성 증진 펩타이드와 단백질로는 RGD 시퀀스를 포함하는 각종 펩타이드와 콜라겐 및 피브리노젠

과 같은 각종 단백질 등을 사용할 수 있다.

[0027] 상기 골 형태 형성인자로는 오스테오칼신(osteocalcin), 본사이알로프로테인(bonesialo protein), 오스테오제닌(osteogenin), BMP 등을 사용할 수 있다.

[0028] 상기 골 성장제는 인체에 무해하고 골 성장을 촉진하는 물질이라면 제한 없이 사용이 가능하며, 골 형성을 증진시키는 핵산, 골 형성을 억제하는 물질의 길항제 등을 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0029] 본 발명의 일실시예에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 것을 특징으로 하는 치과용 자가치아 골 이식재 및 화학식 1로 표시되는 화합물을 이용한 치과용 자가치아 골 이식재의 탈회방법은 인체에 무해하고 제작방법에 따라 분말형, 블록형 등으로 제작이 가능하여 다양한 골 결손부에 적용할 수 있는 장점을 가지고 있다.

[0030] 또한, 본 발명의 일실시예에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 것을 특징으로 하는 치과용 자가치아 골 이식재 및 화학식 1로 표시되는 화합물을 이용한 치과용 자가치아 골 이식재의 탈회방법은 골 결손부에 골이 형성되는 시간을 단축시켜 주는 효과, 즉 신생골의 형성을 촉진시키는 효과가 있다.

[0031] 또한, 본 발명의 일실시예에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 것을 특징으로 하는 치과용 자가치아 골 이식재 및 화학식 1로 표시되는 화합물을 이용한 치과용 자가치아 골 이식재의 탈회방법은 임플란트와 골 간의 접착을 유의성 있게 개선시키는 효과가 있다.

[0032] 또한, 본 발명의 일실시예에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 것을 특징으로 하는 치과용 자가치아 골 이식재 및 화학식 1로 표시되는 화합물을 이용한 치과용 자가치아 골 이식재의 탈회방법은 인체의 경조직 결손부에 매식시 현저한 이물반응 또는 염증이 없고, 상기 골 형성능력 뿐만 아니라 골 전도 및 골 유도 능력을 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0033] 도 1은 임플란트(120)를 식립할 뼈(140)에 골 결손부(130)를 형성하고, 임플란트(120)를 식립한 후, 골 결손부(130)에 자가치아 골 이식재(110)를 이식한 뼈의 단면도(100)이다.

도 2는 자가치아 골 이식재를 제조하는 방법을 나타낸 순서도(200)이다. 준비단계(S210)에서는 임플란트를 식립할 환자의 치아를 발치하여 세척한다. 세척 시, 10% 과산화수소 용액을 사용하여 70℃ 이상에서 6시간 동안 세척할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 분쇄단계(S220)에서는 상기 세척된 치아를 잘게 분쇄한다. 이때, 0.5~1mm size particle 형태로 10조 정도 분쇄할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 탈회단계(S230)에서는 산(acid)을 이용하여 탈회한다. 탈회시간은 20분이 될 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 후처리단계(S240)에서는 상기 탈회된 치아를 재세척하여 소독한다. 멸균 생리식염수를 사용해 10분씩 3회 세척할 수 있고, ethylene oxide gas를 이용해 소독할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

도 3(a)는 골 결손부에 아무런 이식재도 사용하지 않고 임플란트만 식립한 후, 4주 뒤에 식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 3(b)는 도 3(a)의 상부 우측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

도 4(a)는 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% H₂SO₄로 20분 처리한 자가치아 분말을 이식하고 4주 뒤에 식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 4(b)는 도 4(a)의 상부 좌측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

도 5(a)는 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% HCl로 20분 처리한 자가치아 분말을 이식하고 4주 뒤에 식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 5(b)는 도 5(a)의 상부 우측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

도 6(a)는 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% HNO₃로 20분 처리한 자가치아 분말을 이식하고 4주 뒤에 식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 6(b)는 도 6(a)의 상부 좌측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

도 7(a)는 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% 화학식 1로 20분 처리한 자가치아 분말을 이식하고 4주 뒤에

식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 7(b)는 도 7(a)의 상부 우측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

도 8(a)는 골 결손부에 아무런 이식재도 사용하지 않고 임플란트만 식립한 후, 8주 뒤에 식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 8(b)는 도 8(a)의 상부 우측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

도 9(a)는 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% H_2SO_4 로 20분 처리한 자가치아 분말을 이식하고 8주 뒤에 식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 9(b)는 도 9(a)의 상부 우측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

도 10(a)는 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% HCl로 20분 처리한 자가치아 분말을 이식하고 8주 뒤에 식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 10(b)는 도 10(a)의 상부 우측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

도 11(a)는 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% HNO_3 로 20분 처리한 자가치아 분말을 이식하고 8주 뒤에 식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 11(b)는 도 11(a)의 상부 좌측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

도 12(a)는 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% 화학식 1로 20분 처리한 자가치아 분말을 이식하고 8주 뒤에 식립된 임플란트와 주변 골 일부가 포함되도록 채취한 조직의 광학현미경 사진(x12.5)이다. 도 12(b)는 도 12(a)의 상부 좌측면만 더 높은 배율(x40)로 촬영한 광학현미경 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] 이하, 본 발명의 일부 실시예들을 예시적인 도면을 통해 상세하게 설명한다. 각 도면의 구성요소들에 참조부호를 부가함에 있어서, 동일한 구성요소들에 대해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 부호를 가지도록 하고 있음에 유의해야 한다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어, 관련된 공지 구성 또는 기능에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명은 생략한다.

[0035] 또한, 본 발명의 구성 요소를 설명하는 데 있어서, 제 1, 제 2, A, B, (a), (b) 등의 용어를 사용할 수 있다. 이러한 용어는 그 구성 요소를 다른 구성 요소와 구별하기 위한 것일 뿐, 그 용어에 의해 해당 구성 요소의 본질이나 차례 또는 순서 등이 한정되지 않는다. 어떤 구성 요소가 다른 구성요소에 "연결", "결합" 또는 "접속"된다고 기재된 경우, 그 구성 요소는 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되거나 또는 접속될 수 있지만, 각 구성 요소 사이에 또 다른 구성 요소가 "연결", "결합" 또는 "접속"될 수도 있다고 이해되어야 할 것이다.

[0036] 이하 도면을 참조하여 본 발명의 일실시예에 따른 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 치과용 자가치아 골 이식재 및 화학식 1로 표시되는 화합물을 이용한 치과용 자가치아 골 이식재의 탈회방법을 상세히 설명한다.

[0037] 본 발명의 일실시예에 따른 자가치아 골이식재로 사용되는 자가치아 분말 제작시 산 처리를 달리하여 제작한 후, 임플란트 주위의 골 결손부에 이식하여 이식재의 골 형성률을 분석하고, 골 형성능이 높은 자가치아 산 처리 방법을 규명하였다.

[0038] 실시예

[0039] 실험 재료

[0040] 실험동물

[0041] 생후 10개월 내외 체중 15kg 잡종 성견 6마리를 대상으로 하였다. 모두 동일 조건 하에서 사육되었고, 건강 상태는 모두 양호하였다.

[0042] 임플란트

[0043] 직경 3.7mm, 길이 10mm의 hydroxyapatite(HA) coating surface, tapered type 임플란트(Haptite[®], DENTIS Co., Ltd., Daegu, Korea)를 사용하였다. 식립 개수는 1마리의 실험견당 우측 대퇴골에 주근 4개, 좌측 대퇴골

에 4주군 4개로 좌, 우 대퇴골에 총 8개의 임플란트를 식립하였으며, 6마리 실험건에 총 48개의 임플란트를 식립하였다.

[0044] 자가치아 이식재

[0045] 각 성견의 좌우 소구치 4~5개를 발치용 겸자와 포셉을 이용하여 발거하였고, 발거 후 동종끼리 섞이지 않게 구분하여 각 성견의 발거된 치아를 이용하여 자가치아 회분말을 제작하였다. 자가치아 이식재는 세척, 분쇄, 탈회, 세척, 소독의 과정을 거쳐 만들어진다. 초기 세척은 10% 과산화수소(H_2O_2 , Merck, Germany) 용액을 사용하여 70℃ 이상에서 6시간 동안 세척을 시행하였다. 두 번째 과정은 분쇄인데, 초기 세척된 치아를 믹서밀(MM400, Retsch, Germany)을 이용해 0.5~1mm size particle 형태로 10초 정도 분쇄하였고, 세 번째 과정은 탈회인데, 분쇄된 치아를 2% 황산(H_2SO_4), 2% 염산(HCl, Merck, Germany), 2% 질산(HNO_3 , Sigma-aldrich, USA), 2% 화학식 1을 이용하여 20분간 탈회하였다. 네 번째 과정은 탈회된 치아의 재세척인데, 멸균생리 식염수(Isotonic solution, 대한약품공업주식회사, 한국)를 응용해서 1000mL에 10분씩 3회 세척하였다. 완성된 자가치아 이식재는 ethylene oxide gas(Steri-vacTM, 3M, USA)를 이용하여 소독한 후 사용하였다.

[0046] 실험 방법

[0047] 마취

[0048] 수술 전 2% xylazine hydrochloride(3mg/kg, Rumpun[®]; Bayer Vetchem-Korea Ltd., Seoul, Korea.)과 Zoletil[®] (Virbac S.A., Carros, France)를 1:1로 섞은 용액을 0.2mL/Kg의 용량으로 근육하여 전신 마취를 유도한 후 임플란트 식립 부위의 출혈 방지와 동통 억제를 위해 2% hydrochloride lidocaine(1:100000 Epinephrine 함유, Yuhan Co. Ltd., Seoul, Korea)으로 침윤마취를 시행하였다.

[0049] 대조군 및 실험군의 분류

[0050] 임플란트는 모두 직경 3.7mm, 길이 10mm의 HA coating surface, tapered type fixture(Haptite[®], DENTIS Co., Ltd., Daegu, Korea)를 사용하였다. 대퇴골에 8mm trephine bur(3i, Biomet 3iTM, Florida, USA)를 이용하여 2mm 간격으로 4mm 깊이의 골 결손부를 형성하고 임플란트 식립 후 골 결손부에 자가치아 이식재를 이식하였는데, 자가치아 이식재의 산처리 방법에 따라 실험군을 분류하였다. 대조군은 골 결손부에 아무런 이식재도 사용하지 않고 임플란트만 식립하였고, 실험 1군은 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% H_2SO_4 로 20분 처리한 자가치아 분말이식하였고, 실험 2군은 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% HCl로 20분 처리한 자가치아 분말이식을 하였고, 실험 3군은 골 결손부에 임플란트를 식립한 후, 2% HNO_3 로 20분 처리한 자가치아 분말이식을 하였으며, 실험 4군은 골 결손부에 임플란트를 식립한 후 2% 화학식 1로 표시되는 화합물로 20분 처리한 자가치아 분말이식을 시행하였다. 식립 위치는 성견의 대퇴골에서 근심부위부터 대조군, 실험 1군, 실험 2군, 실험 3군, 실험 4군의 순서로 시행하였다.

[0051] 임플란트는 실험건의 좌측 및 우측 대퇴골에 각각 대조군 1개와 실험군 5개를 식립하여, 실험건 한 마리당 10개의 임플란트가 식립되었으며, 좌측의 5개는 4주군, 우측의 5개는 8주군으로 하였다. 실험건은 총 6마리로 모두 60개의 임플란트가 식립되었다. 상기 대조군 및 실험군의 분류는 하기 표 1과 같다.

표 1

Group	Graft material	Healing periods (wks)	Number of fixtures
Control	No graft	4	5
		8	5
Experimental group 1	Auto tooth bone material treated with 2% H ₂ SO ₄	4	5
		8	5
Experimental group 2	Auto tooth bone material treated with 2% HCl	4	5
		8	5
Experimental group 3	Auto tooth bone material treated with 2% HNO ₃	4	5
		8	5
Experimental group 3	Auto tooth bone material treated with 2% 화학식 1	4	5
		8	5

[0052]

[0053]

골 결손부 형성 및 임플란트 매식

[0054]

앞서 기술한 마취방법으로 전신마취 시행한 후, 실험동물을 복와위로 위치시키고 대퇴부를 제모하고 포타딘으로 수술 부위부터 주변까지 속독한 후 소독된 구멍포로 방포하였다. 대퇴부의 전외측 피부에 5cm 가량의 절개를 가 하고 대퇴사두근을 견인하고 골을 노출시킨 후, 골막하 박리(subperiosteal dissection)를 통해 대퇴골을 노출 시켰다. 노출된 대퇴골에 Trephine bur를 이용하여 지름 8mm, 깊이 4mm로 골 결손부를 형성하고, 근심부위부터 대조군, 실험 1군, 실험 2군, 실험 3군, 실험 4군의 순서로 생리식염수로 주수 하에 제조사의 지시대로 drilling하여 임플란트를 식립하였다. 임플란트 식립 후에 실험군에는 2% H₂SO₄로 20분 처리한 자가치아 분말, 2% HCl로 20분 처리한 자가치아 분말, 2% HNO₃로 20분 처리한 자가치아 분말, 2% 화학식 1로 표시되는 화합물로 20분 처리한 자가치아 분말을 각각 이식하였다. 임플란트 식립 후, 골막은 4-0 흡수성 봉합사로 봉합을 시행하고, 피부는 4-0 비흡수성 봉합사를 이용하여 층별 봉합을 시행하였다. 수술 부위의 감염 예방을 위해 수술 후 5일 동안 1mL gentamicin sulfate(0.1 ml/kg, Deasung Gentamycin inj., Deasung Microbiological Labs. Co., Ltd, Uiwangsi, Korea)를 하루 2회 각각 2cc씩 근주하였다.

[0055]

최초 임플란트 식립은 실험 견의 우측에 실시하였고, 4 주후 실험 견의 좌측에 같은 방법으로 임플란트를 식립 함으로써 우측은 8 주군, 좌측은 4 주군으로 하였다. 좌측에 4 주군을 식립하고, 4 주 후에 실험견을 희생시키 으로서 4 주군과 8 주군의 조직을 동시에 채취하였다.

[0056]

실험 동물의 희생과 시편 채취

[0057]

실험 견의 좌,우측 대퇴골에 임플란트를 식립한 후 각각 4 주와 8 주의 치유기간을 부여한 후에 ketamine (Ketalar[®], Yuhan Co. Ltd., Seoul, Korea)의 과량 투여로 동물을 희생시키고, 대퇴골 부위에 식립된 임플란트 와 주변 골 일부가 포함되도록 조직을 채취하였다.

[0058]

실험 평가

[0059]

조직학적 평가

[0060]

성견을 희생시킨 후 주변 골을 포함한 임플란트를 블록형태로 제거하였다. 제거된 시편은 즉시 10% 포르말린 용 액에 넣어 고정하며, 임플란트를 1 개씩 포함하는 시편을 제작하였다. 그 후 70%의 alcohol에 6 일간 고정하며, 이후 24 시간 동안 상온의 흐르는 물에서 세척하였다. 알코올 세척을 통해 탈수시킨 후 glycometacrylate resin(spurr Low-viscosity Embedding media, Polyscience, PPA, USA)에 포매하였다. 중합시킨 시편을 high-

precision diamond disc(Low speed diamond wheel saw 650, SBT, San clemente, CA, USA)를 사용하여 임플란트 장축방향으로 약 200 um 두께로 절단한 후 최종적으로 Lapping & polishing machine(OMNILAP 2000, SBT, San clemente, CA, USA)을 사용하여 30 um 두께로 연마하고, 각 임플란트당 2 개의 슬라이드를 제작하는데 골의 조직학적 통계계측을 위한 기본적인 염색법인 Villanueva osteochrome bone stain(San clemente, CA, USA)을 시행한 후 광학현미경(Olympus BX51, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

[0061] 조직형태학적 평가

[0062] 조직형태학적으로 임플란트 주위의 접촉(bone to implant contact: BIC)과 신생골 형성정도(new bone formation rate: NBFR)로 평가되었고, 방법은 아래와 같다.

◆ 임플란트 나사선내의 신생골 충전율을 비교 평가

$$implant \text{ 나사선 내의 신생골 충전율} = \frac{implant \text{ 나사선내 신생골 면적}}{implant \text{ 나사선내 총 면적}} \times 100(\%)$$

[0063]

[0064] 통계학적인 분석은 SPSS v.17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA)를 이용한 One-way ANOVA를 사용하였으며, P value가 0.05보다 작은 경우에 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

[0065] 실험 결과

[0066] 4주군

[0067] 도 3 내지 도 7에서 확인할 수 있는 바와 같이, 임플란트 식립 4주 후 대조군(도 1), 실험 1군(도 2), 실험 2군(도 3), 실험 3군(도 4), 실험 4군(도 5) 모두 염증세포 침윤의 특이한 차이 없이 신생골이 형성됨을 확인할 수 있었다. 도 3 내지 도 7에서 별표표시는 식립된 임플란트를 가리키고, 화살표표시는 신생골이 형성되는 지역을 가리킨다. 그러나, 하기 표 2 및 표 3에서 보여지는 바와 같이, NBFR 및 BIC의 통계적 분석결과에서는 유의한 차이를 보이지 않았다.(p>0.05) 이는 4주 군에서 대조군과 실험군 사이에 평균값 차이가 크기 때문에 통계적으로 유의하다고 생각될 수 있으나, 표준편차의 값이 매우 크기 때문에 통계적으로 유의성이 있는 p value이 나타나지 않은 것이다.

[0068] 8주군

[0069] 도 8 내지 도 12(도 8 내지 도 12에서 별표표시는 식립된 임플란트를 가리키고, 화살표표시는 신생골이 형성되는 지역을 가리킨다)에서 확인할 수 있는 바와 같이, 임플란트 식립 8주 후 대조군(도 8), 실험 1군(도 9), 실험 2군(도 10), 실험 3군(도 11), 실험 4군(도 12) 모두 특이한 염증조건 없이 4주군에 비해 더 좋은 신생골 형성을 확인할 수 있었고, 하기 표 2에서 보여지는 바와 같이, NBFR의 경우 실험 2, 3, 4군의 값이 대조군 및 실험 1군과의 결과에서 유의한 차이를 보였다.(p<0.05) 하기 표 3에서 볼 수 있는 것처럼 BIC의 경우 실험 4군이 대조군 및 실험 1군의 결과에서 유의한 차이를 보였다.(p<0.05) 그러나, 나머지 실험군들 간에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다.(p>0.05)

[0070] 하기 표 2는 임플란트 식립 후 4주군 및 8주군에서의 NBFR을 나타내며, 하기 표 3은 임플란트 식립 후 4주군 및 8주군에서의 BIC를 나타낸다. 각 군에 해당하는 숫자는 "(평균값) ± (표준편차)" 를 의미한다.

표 2

Time period	Control	Experimental			
		Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
4 weeks	25.88±6.03	29.63±14.39	36.13±9.71	40.38±8.77	45.25±4.87
8 weeks	44.00±5.94	45.63±13.07	65.88±8.88*	70.13±7.65*	77.88±4.07*

[0071]

표 3

Time period	Control	Experimental			
		Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
4 weeks	38.00±5.80	31.50±18.23	36.25±10.69	37.13±7.40	46.25±3.80
8 weeks	55.63±7.00	56.75±15.34	67.00±11.45	69.25±10.35	80.00±2.89*

[0072]

[0073] 자가치아의 "골 형성 정도" 및 "골과 임플란트 간의 접촉"에 대한 결과

[0074] 상기 표들에서 볼 수 있는 것처럼, 탈회 정도를 조절하기 위해 동일한 농도의 황산, 질산, 염산, 화학식 1로 표시되는 화합물을 사용하여 실험을 진행한 결과, 8주군의 질산 실험군, 염산 실험군, 화학식 1로 표시되는 화합물 실험군이 황산 실험군 및 대조군과의 유의한 차이를 보였다.($p<0.05$) 산 처리 정도를 달리함으로 생기는 결과의 변화는 골 결손부에 골이 형성되는 시간이 단축되는 것으로 판단되어 4주군에서도 유의한 차이가 나타날 것으로 예상되었으나, 오히려 큰 차이를 나타내지 않았고 더 시간이 지난 이후인 8주군에서 유의성이 나타났다. 이는 4주라는 기간이 유의한 변화를 보이기에는 짧은 시간임을 나타낸다.

[0075] 골과 임플란트 간의 접촉에 대한 평가는 골 형성 정도에 대한 평가와 마찬가지로 4주군에서는 유의성이 없었으나, 8주군에서 화학식 1로 표시되는 화합물 실험군이 황산 실험군 및 대조군과 유의적인 차이를 보였다.

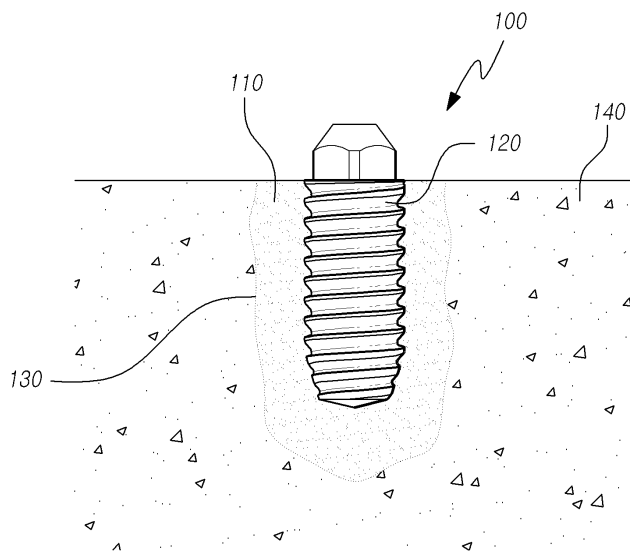
[0076] 결국, 화학식 1로 표시되는 화합물 실험군, 즉 골 결손부에 임플란트를 식립한 후 2% 화학식 1로 표시되는 화합물로 20분 처리한 자가치아 분말(골 이식재)만이 가장 높은 골 형성 정도를 보임과 동시에 임플란트와 골간의 높은 결합력을 보여주었다. 따라서, 자가치아 골 이식재를 제작하는 과정의 하나인 탈회과정에서 화학식 1로 표시되는 화합물로 산 처리한 경우, 신생골 형성을 돕고 임플란트와 뼈와의 접촉을 유의하게 증가시키는 특징을 가지게 됨을 알 수 있다.

[0077] 이상의 설명은 본 발명을 예시적으로 설명한 것에 불과한 것으로, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가지는 자라면 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 다양한 변형이 가능할 것이다. 따라서, 본 명세서에 개시된 실시예들은 본 발명을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이고, 이러한 실시예에 의하여 본 발명의 사상과 범위가 한정되는 것은 아니다.

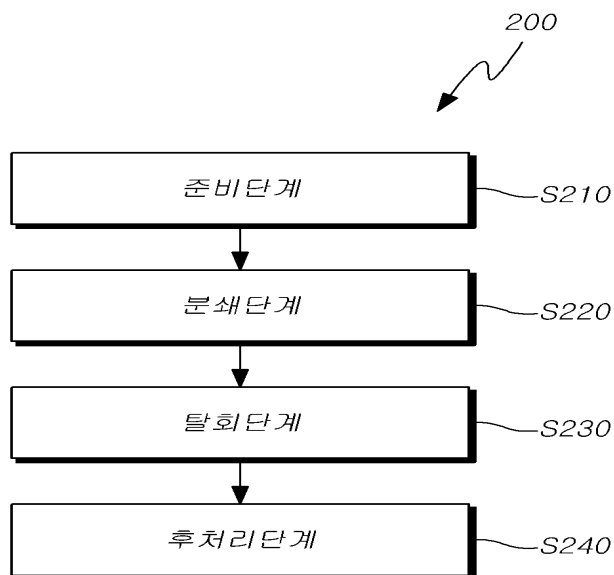
[0078] 본 발명의 보호범위는 아래의 청구범위에 의하여 해석되어야 하며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 기술은 본 발명의 권리범위에 포함하는 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

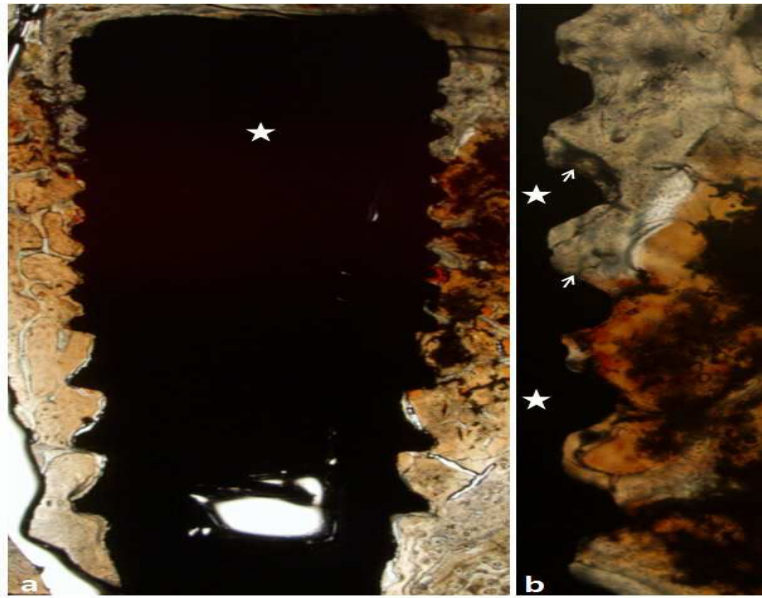
도면1



도면2



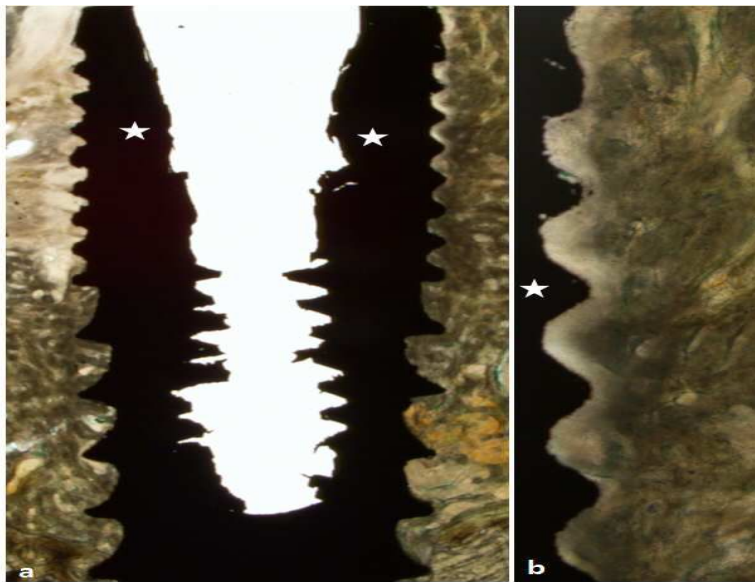
도면3



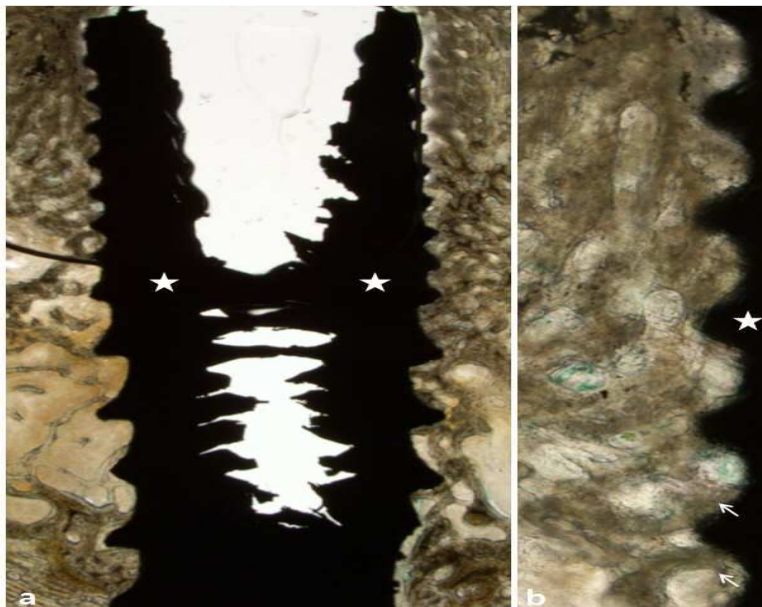
도면4



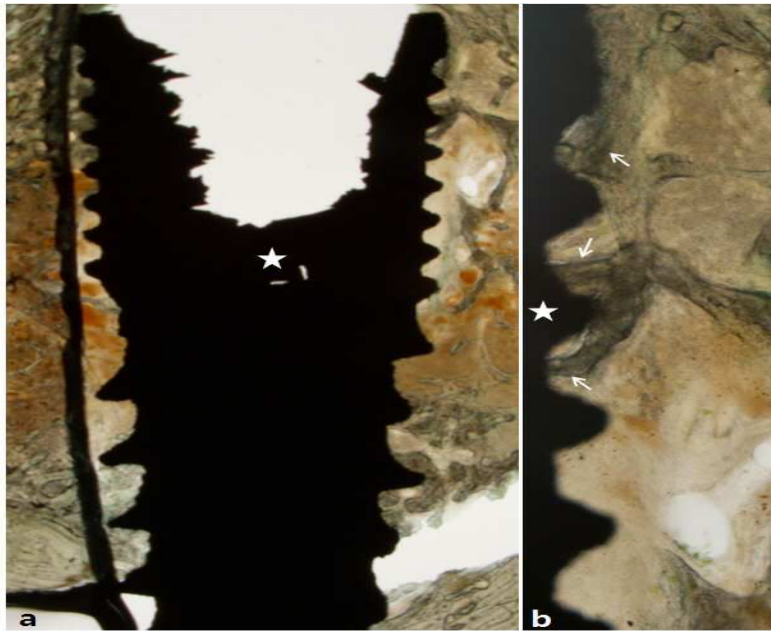
도면5



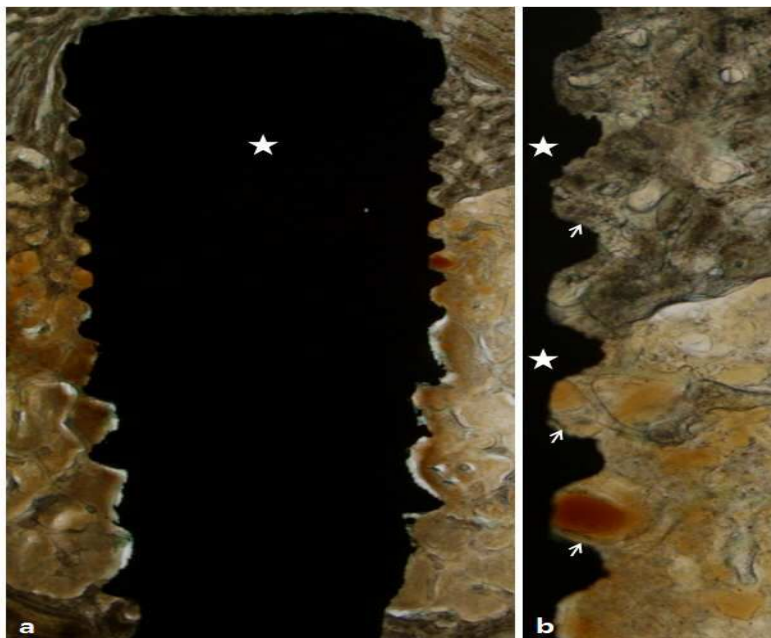
도면6



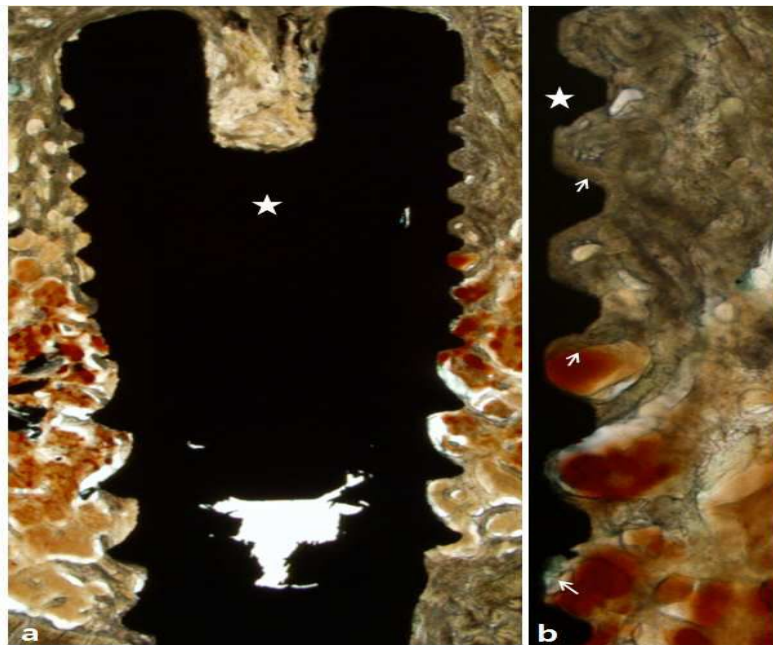
도면7



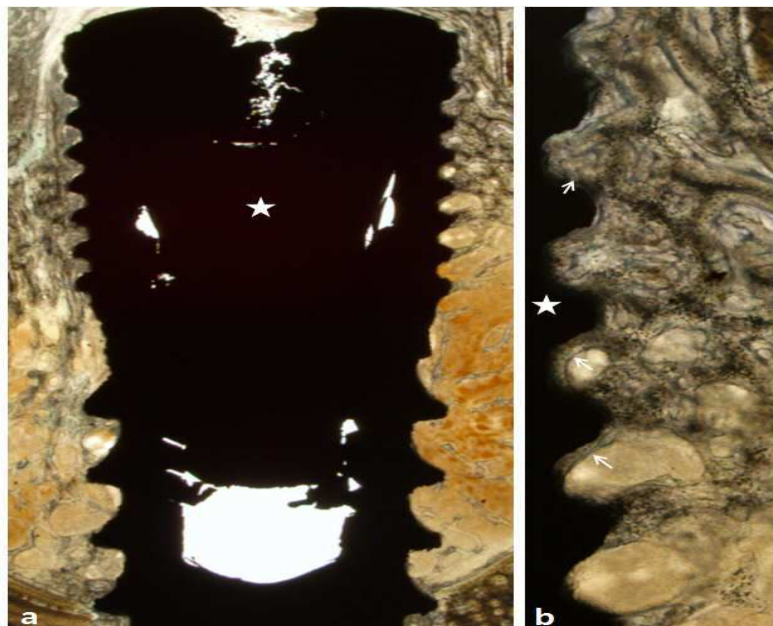
도면8



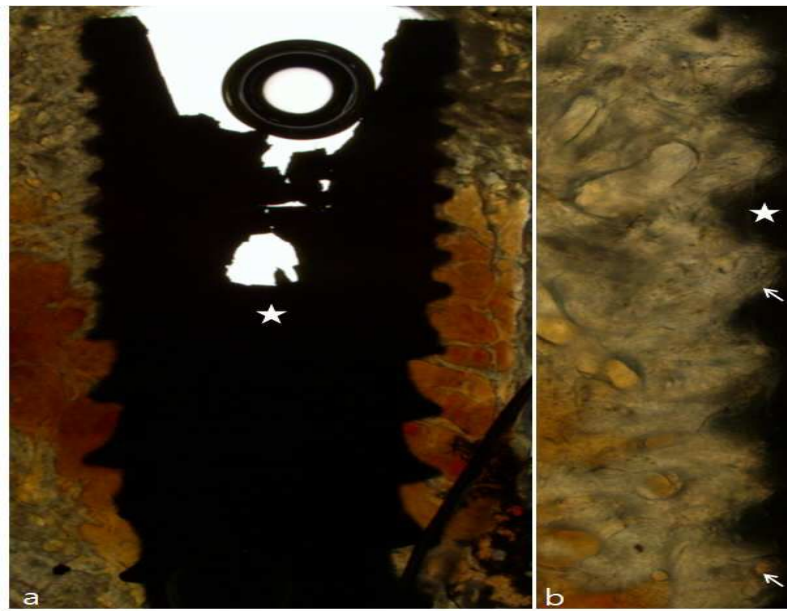
도면9



도면10



도면11



도면12

