

실크 소재를 활용한 치과용 차폐막

이 용찬¹, 권 민수¹, 배 선숙¹, 권 해용², 조 유영², 김 성곤³
베스티안 병원¹, 국립 농업과학원², 강릉원주대학 치과대학 구강악안면외과³

Dental membrane using silk fibroin

Yong-Chan Lee¹, Min-Su Kwon¹, Sun-SookBae¹, Hae-Yong Kweon², You-Young Jo²,
Seong-Gon Kim³

Bestian Hospital¹, National Academy of Agricultural Science², Gangneung-Wonju National University³

Corresponding Author: Yong-Chan Lee, DDS, PhD

Bestian Hospital, 939-24 Daechi 4-dong, Kangnam-Gu, 135-284 Seoul, Korea

Tel : 070-7609-9246 Fax : 070-7005-4231 E-Mail : leeyc@ibestian.com

Acknowledgement

“ 이 논문은 농촌진흥청의 차세대 21 바이오그린 사업에 의해 연구되었음 ”

This study was supported by a grant from the Next-Generation BioGreen21 Program (Center for Nutraceutical & Pharmaceutical Materials no. PJ009013), Rural Development Administration, Republic of Korea.

Abstract

Silk fibroin is produced by silkworm. It has been widely studied in the tissue engineering as a scaffold. Silk fibroin can be casted as different kinds of shape. It also can be produced as film. Silk fibroin film has been applied for the reconstruction of tympanic membrane. It is also tested for the guided bone regeneration. Though the bone regeneration was successful, the film itself was too brittle. Thus, the handling film was difficult.

In this study, we produced membrane using silk fibroin combined sericin and 4-HR. It showed excellent physical properties. In addition, silk fibroin combined sericin membrane showed good biocompatibility and similar bone formation when compared to the commercial products.

1. 서론

현대 사회가 급속도로 고령화 사회로 변하면서 노인의 건강유지가 중요한 문제가 되었으며 특히 노인 구강건강에 대한 관심이 증가하고 있다. 구강 건강은 저작 기능의 유지와 밀접하게 관련되며 저작기능은 건강한 치조골에 뒷받침해주는 치아의 존재 유무가 중요한 역할을 한다. 그러나 노인의 경우 치아가 탈락됨으로써 치조골이 흡수되어 치조골의 재생을 필요로 하는 경우가 많다¹⁾. 국내 치조골재생관련 시장규모는 2010년 기준 약 7,000 여억원 정도로 추산되고 있으며 이중 차폐막은 아직 많은 부분이 수입에 의존하고 있다²⁾. 따라서 안정된 생체적합성을 가지고 있으면서도 실용성이 있고 저렴한 소재를 이용한 차폐막

을 개발한다면 국민의 구강건강향상에 높은 기여를 할 수 있을 것으로 사료된다.

차폐막 소재로는 다양한 재료가 검토되어왔다. 초기에 비흡수성 합성 차폐막이 주로 사용되었으나 높은 감염율과 이식재 노출로 인한 합병증으로 최근에는 대부분 생체 재료 소재의 차폐막을 치과 임플란트 기술과 연관되어 사용하고 있다³⁾. 현재 가장 많이 사용되고 있는 차폐막 소재는 교원섬유로부터 제조한 것으로 주로 소나 돼지의 진피에서 얻어진 교원섬유를 이용한 차폐막이 가장 많이 사용되고 있다⁴⁾. 동물 교원 섬유에서 기원한 차폐막의 문제점은 몇 가지 언급되고 있는데, 인수 감염은 그 가능성이 적기 때문에 크게 염려할 필요가 없지만 복잡한 제조

과정을 거치기 때문에 재료가 비싸다는 것이 단점이다⁵⁾. 이 때문에 차폐막을 당연히 적용하여야 할 임상 증례에서도 비용 때문에 적용하지 못하는 경우가 많으며 의료 보험 적용도 받지 못하고 있다.

이에 생체 적합성이 높으면서 가격이 저렴한 치과용 차폐막 소재의 개발이 시급하게 되었으며 본 연구에서는 실크 소재의 차폐막을 교원섬유 차폐막의 대체 재료로 개발하게 되었다. 실크는 silkworm에 의하여 만들어진 곤충 기원의 단백질로 아미노산 조성은 교원섬유와 유사하다⁶⁾. 따라서 실크 소재를 이용한 필름 형태의 제재로는 인공 고막이나 치과용 차폐막이 이미 검토되어 개발되고 있다^{7,8)}. 하지만 필름 형태의 차폐막의 경우 높은 굴 재생 능력에도 불구하고 물에 쉽게 용해되어 형태의 안정성이 떨어지고 건조된 상태에서는 쉽게 파절되어 다루기 어려운 단점이 있었다. 본 논문에서는 현재까지 소개된 실크 단백질을 이용한 차폐막 제조법에 대하여 알아보고 실크 소재 차폐막의 전임상 시험 결과를 문헌 고찰을 통하여 알아보고자 한다.

2. 실크 단백질을 이용한 차폐막 제조법

실크수술용 봉합사로 널리 사용되는 실크 단백질은 생체적합성이 검증된 안전한 소재이다. 실크 단백질을 이용한 차폐막 제조법은 크게 세가지로 나누어 볼 수 있는데, 이는 (1) 침적법, (2) 전기 방사법, (3) P&S법이다.

침적법에 의하여 만들어진 실크 필름은 국립농업과학원에서 제공받았다(그림 1). 이는 주로 실크 피브로인과 첨가물로 제조되었다. 침적법의 장점은 수용성 활성 성분을 실크 피브로인에 쉽게 혼합하여 제조할 수 있다는 점이다⁹⁾. 검토할 수 있는 수용성 활성 성분으로는 항균 작용을 할 수 있는 항생제나 분자량이 작은 BMP와 같은 성장 인자를 고려할 수 있다. 침적법으로 제조한 실크 차폐막은 신생골 형성 능력은 우수하나 물성이 쉽게 부서어지는 현상이 있고 물에 적신 경우 너무 쉽게 용해되는 단점이 있었다. 따라서 생산공정으로 침적법을 선택하기에는 상품성과 대량생산에 불리하다는 결론을 얻게 되었다.

이에 비하여 전기방사법은 대량생산이 가능하다는 장점이 있다¹⁰⁾. 전기방사법으로 제조한 실크지지체의 경우 그림 2에서 보이는 바와 같이 미세하고 균일한 섬유를 얻을 수 있었고 대량생산이 가능하며 물성도 침적법에 비하여 임상적용측면에서 유리하였다. 하지만 유기용매를 사용하여야 한다는 점 때문에 잔존 용매에 따른 독성문제와 약물을 첨가하여 제조에 필요한 기술이 없다는 것이 단점으로 지적되었다. 또한 사용하는 용매에 의하여 변성될 수 있는 생체 활성 물질을 차폐막에 첨가할 수 없다는 점이 고기능성 치과용 차폐막 제조의 걸림돌이었다.

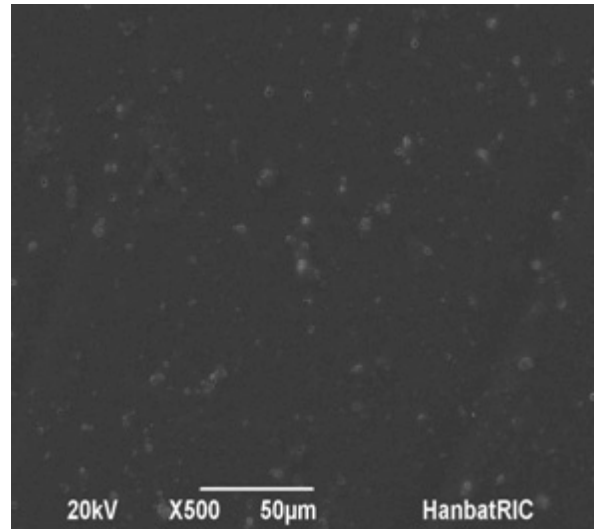


그림 1. 침적법으로 제조된 실크 차폐막의 전자 현미경 소견

이에 저자들은 P&S법을 개발하여 의료용 소재로 품종이 개량된 원재료를 P&S법으로 가공하여 임상적으로 적용가능한 수준의 물성을 가지는 실크단백질 차폐막 제조공정을 확립할 수 있었다. P&S법으로 제조된 실크 차폐막의 경우 건조된 상태 뿐 아니라 젖은 상태에서도 인장강도가 높게 유지되어 임상에서 다루는 데에 교원섬유 소재 차폐막에 비하여 큰 장점을 가지고 있었다. P&S법은 다른 방법에 비하여 제조 공정이 비교적 간단하고 복잡한 설비가 필요 없다는 점이 가장 큰 장점이라 할 수 있다. 따라서 이를 통하여 차폐막의 제조에 소요되는 경비를 절감함으로써 기존 상품화된 차폐막에 비하여 가격 경쟁력이 우수한 차폐막을 제조할 수 있을 것으로 기대하고 있다.

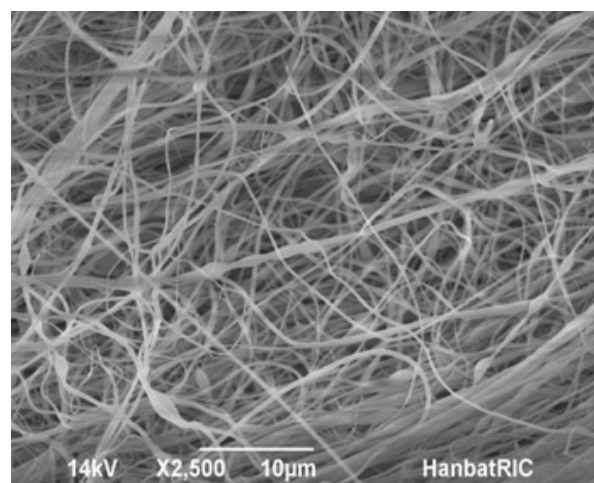


그림 2. 전기방사법으로 제조된 실크 지지체

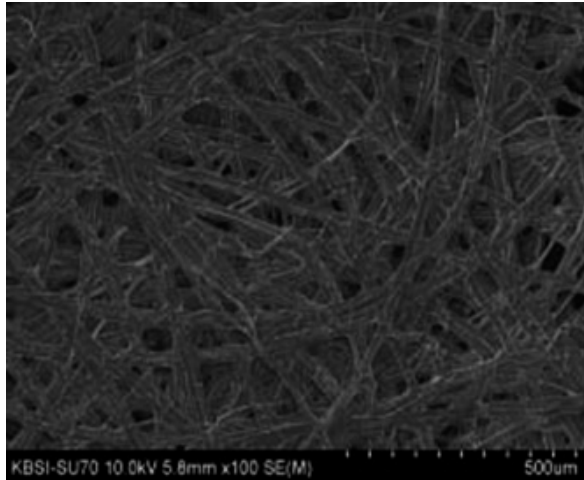


그림 3. P&S법으로 제조된 실크 차폐막

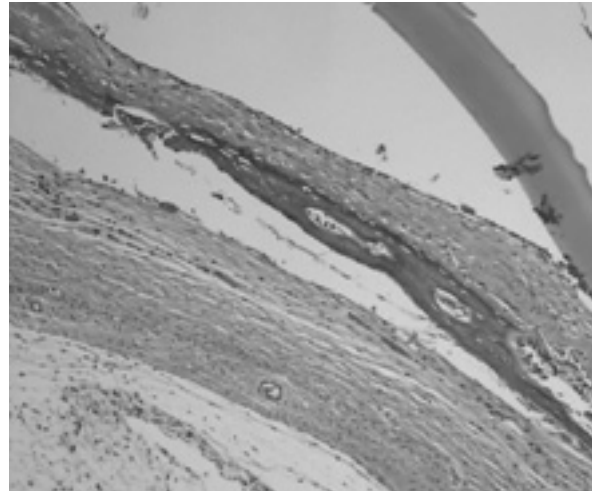


그림 4. 실크 차폐막 적용 후에 4주가 경과된 사진으로 실크 차폐막이 상단에 관찰되고 그 하방에 가는 띠 형태의 신생골 형성을 관찰할 수 있다.

3. 실크차폐막에 의한 골 재생

실크 차폐막에 대한 골 재생은 주로 필름 형태로 만들어진 차폐막을 중심으로 이루어져 왔다. 현재까지 출간된 논문 중에서 P&S법으로 제조된 차폐막에 대한 동물실험 결과는 아직은 없다. 이 단락에서는 논문으로 출간되어 그 효능이 검증된 결과를 중심으로 살펴보고자 한다.

필름 형태의 실크 소재 차폐막 논문 중에서 가장 먼저 나온 것은 송 등¹¹⁾에 의하여 2011년에 Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics에 발표된 논문이다. 이 논문에서 저자는 가장 용해도가 낮은 필름 형태의 실크 피브로인 차폐막을 이용하여 골 재생을 평가하였는데, 대조군에 비하여 유의할 만큼 높은 수준의 골 재생을 관찰하였다고 한다. 한 가지 특이점은 이전에 실크 소재의 이식재에서 관찰되었던 이물 다핵 거대세포가 조직학적 조건에서 관찰되지 않았다는 점이고 실크 차폐막 주위로 염증 반응도 거의 없었다는 점이다.

위의 연구를 기반으로 하여 항생제나 항균제를 포함한 실크 피브로인 소재의 실크 차폐막을 개발하게 되었다. 실크 피브로인 소재 차폐막에 첨가한 유기화합물로는 항생제의 일종인 tetracycline과 구강 청결제에 포함되는 성분인 4-hexylresorcinol이 있었다. 두 종류의 차폐막 모두 가토의 두정골 결손 모델에서 그 효능을 검증하였다(그림 5).

먼저 tetracycline이 함유된 실크피브로인 소재 차폐막의 효능에 대하여는 이 등¹²⁾이 발표한바 있다.



그림 5. 동물실험 모형. 좌측에 실크 차폐막이 거치된 모습.

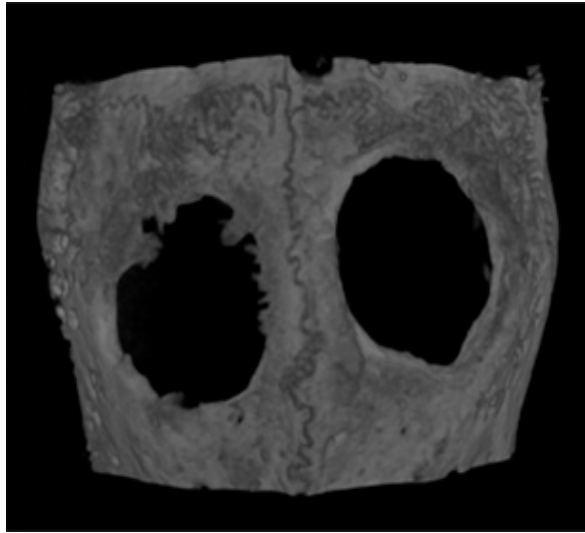


그림 6. 전산화 단층 촬영 결과

미세 전산화 촬영 결과에 대한 통계 분석은 같은 실험 동물에서 좌우 차이의 분석을 위하여 paired t-test를 사용하였다(그림 6). 가토의 경우 개체의 차이에 따른 골 형성 능력의 차이가 크므로 서로 다른 동물에서 골 결손부의 수복 정도는 비교하지 않았다. 조직 시편에서 신생골의 형성을 분석하였다. 모든 통계 분석에서 유의 수준은 p값이 0.05 미만으로 나오는 경우

에 한하여 그 차이가 유의한 것으로 판단하였다. 결과를 살펴보면 수술 8주 후 신생골 부피는 silk + tetracycline군에서 $36.56 \pm 8.50\text{mm}^3$, silk군에서는 $25.86 \pm 8.17\text{mm}^3$, 차폐막을 적용하지 않은 대조군에서 $19.09 \pm 5.07\text{mm}^3$ 으로 측정되었다(그림 7: $P=0.009$). Post hoc test 결과 silk + tetracycline군과 silk군 사이의 차이도 유의하였고($P=0.041$), silk + tetracycline군과 차폐막을 적용하지 않은 대조군 사이의 차이도 유의하였다($P=0.003$).

술 후 8주 조직소견에서 silk + tetracycline을 적용한 군은 대조군보다 좀 더 많은 골형성을 보였던 반면, 차폐막이 적용되지 않은 대조군에서는 결체조직, 근육 등이 골결손부에 위치해 있는 것을 관찰할 수 있었다(그림 8). 실크 피브로인만을 적용한 군에서도 대조군에 비하여 우수한 골형성을 보여주었지만 silk + tetracycline을 적용한 군에 비하여 형성된 골의 양은 다소 적은 것으로 보였다. 술 후 8주의 조직소견에서 실험군과 대조군 모두에서 뚜렷한 염증소견은 관찰이 되지 않았다(그림 8). 이 논문에서는 실크 피브로인 단독으로 제조된 차폐막으로도 충분히 대조군에 비하여 우수한 골재생을 관찰할 수 있으나 실크 피브로인에 tetracycline이라는 항생제 성분을 포함하는 경우 골재생이 더 우수하다는 것을 알 수 있었다.

실크 피브로인에 또 다른 유효성분인 4-hexylresorcinol

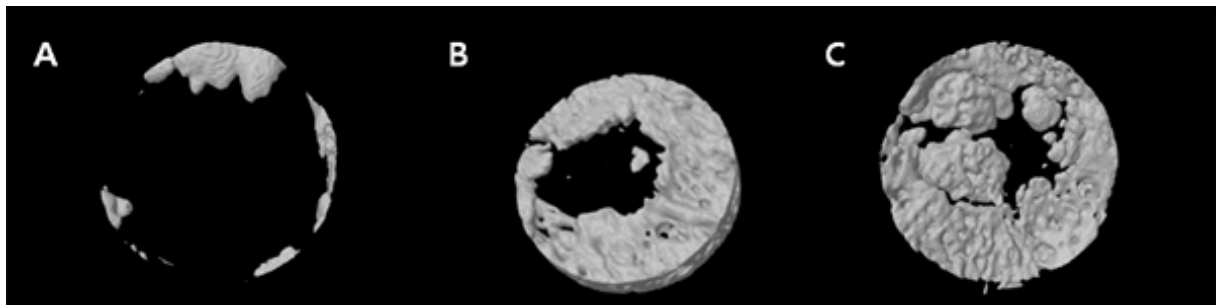


그림 7. 술 후 8주 경과 시 미세 전산화단층 촬영 결과 (A) 대조군, (B) Silk membrane, (C) Silk + tetracycline membrane

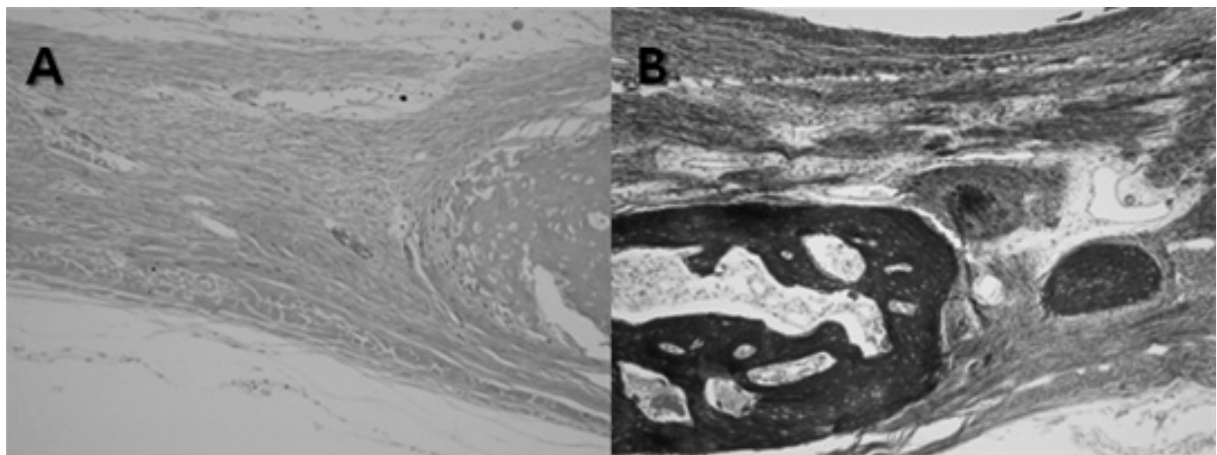


그림 8. 술 후 8주 소견 (A) 대조군, (B) silk + tetracycline군

을 첨부한 차폐막의 시험 결과는 아직 출간되지는 않았으나 그 시험 결과를 알아보면 다음과 같다.

치과용 차폐막을 공급할 수 있을 것으로 기대한다.

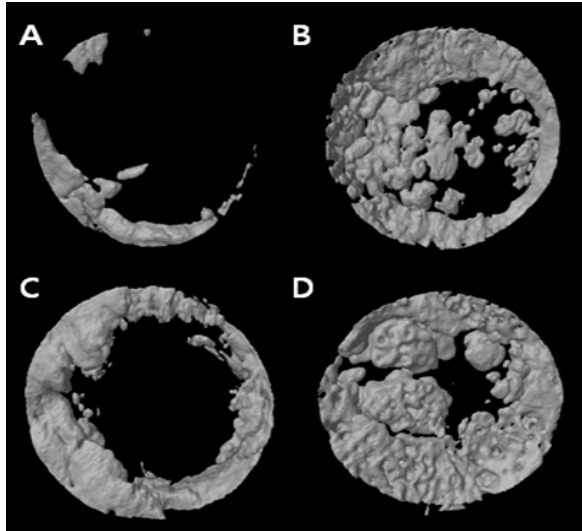


그림 9. (A) 4주 대조군, (B) 4주 4-HR+SFM 군, (C) 8주 대조군, (D) 8주 4-HR+SFM 군

실크 피브로인과 4-HR을 혼합하여 제조한 실크 차폐막(4-HR+SFM)의 경우 자연치유시킨 대조군에 비하여 미세전산화단층촬영으로 분석한 결과 4주 및 8주에서 모두 우수한 골형성을 보여주고 있다(그림 9). 4-HR은 널리 사용되는 항균제임과 동시에 최근 연구에서 NF- κ B pathway를 억제한다는 것이 알려져서 골 이식재의 첨가물로 사용되는 경우 파골세포의 활성화를 막아서 골 재생을 도울 수 있다³⁾. 추후 P&S법으로 제조된 차폐막에 대하여도 필름 형태의 차폐막에 적용된 것과 동일한 골 재생을 촉진할 수 있는 성분을 첨가하여 전임상 시험을 통하여 그 효능을 검증하여야 할 것이다.

4. 결론

실크 피브로인은 누에에서 만들어지는 단백질로써, 생체 적합성이 뛰어나 조직공학에서 많이 연구되고 있는 지지체 중의 하나이다. 실크 피브로인만을 이용한 필름으로 제조된 인공고막이 상용화되고 있고 골 결손부 모형에서 차폐막으로 사용할 때에도 그 결과가 우수한 것으로 이미 보고되고 있다. 하지만 실크 피브로인 단독으로 구성된 차폐막의 경우 가수분해를 통한 침적법으로 제조하다 보면 용해도가 너무 높아져서 흡수속도가 지나치게 빠를 수 있고 건조 시에 인장강도가 너무 약하여 쉽게 부서지는 단점이 있었다. 이에 실크 피브로인에 접착 단백질인 세리친과 4-HR을 같이 이용하여 P&S법으로 차폐막을 만든 결과, 인장강도가 높아져 술자가 다루기에 편하며 치과용 차폐막으로서 기능도 우수함을 발견할 수 있었다. 추후 전임상 시험과 임상 시험을 통하여 그 효능이 입증되면 값싸고 우수한 기능을 가진

참고문헌

1. Semb G. Alveolar bone grafting. *Front Oral Biol* 2012;16:124-136.
2. 김현경. 한국임플란트 기술력 최고, 이제는 세계로 나아가야 할 때. 프라임경제. October 10, 2011.
3. Li J, Wang HL. Common implant-related advanced bone grafting complications, classification, etiology, and management. *Implant Dent* 2008;17:389-401.
4. El Helow K, El Askary Ael S. Regenerative barriers in immediate implant placement: a literature review. *Implant Dent* 2008;17:360-371.
5. Urban IA, Jovanovic SA, Lozada JL. Vertical ridge augmentation using guided bone regeneration (GBR) in three clinical scenarios prior to implant placement: a retrospective study of 35 patients 12 to 72 months after loading. *Int J OralMaxillofac Implants* 2009;24:502-510.
6. Kasoju N, Bora U. Silk fibroin in tissue engineering. *AdvHealthc Mater* 2012;1:393-412.
7. Levin B, Rajkhowa R, Redmond SL, Atlas MD. Grafts in laryngoplasty: utilizing a silk fibroin scaffold as a novel device. *Expert Rev Med Devices* 2009;6:653-664.
8. Mori H, Tsukada M. New silk protein: modification of silk protein by engineering for production of biomaterials. *J Biotechnol* 2000;74:95-103.
9. Lee OJ, Lee JM, Kim JH, Kim J, Kweon H, Jo YY, Park CH. Biodegradation behavior of silk fibroin membranes in repairing tympanic membrane perforations. *J Biomed Mater Res A* 2012;100:2018-26.
10. Zhang X, Reagan MR, Kaplan DL. Electrospun silk biomaterial scaffolds for regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev* 2009;61:988-1006.
11. Song JY, Kim SG, Lee JW, Chae WS, Kweon H, Jo YY, Lee KG, Lee YC, Choi JY, Kim JY. Accelerated healing using a Silk fibroin membrane for the guided bone regeneration technique. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Rad Endodont* 2011;112: e26-e33.
12. 이상운, 박용태, 김성곤, 권해용, 조유영, 이희삼. 가토두개골결손모델에서 테트라사이클린 함유 실

크 파이브로인 차폐막의 골유도재생효과. 대한
악안면성형재건외과학회지 2012;34: 293-298.

13. Kim SG, Lee SW, Park YW, Jeong JH, Choi JY. 4-hexylresorcinol inhibits NF- κ B phosphorylation and has a synergistic effect with cisplatin in KB cells. Oncology Report 2011;26:1527-1532.