

쥐 등 모델에서의 poly-(L)-lactic acid (PLLA) 차단막과 EGF가 탑재된 PLLA 차단막의 흡수도 및 생체 친화성 평가

김유경^{1†}, 안은철^{1†}, 권미경², 윤지훈², 허영구², 차재국¹, 이종석¹, 정의원¹, 최성호¹

¹연세대학교 치과대학, 치주과학 교실, 치주조직재생 연구소

²네오 바이오텍 R&D 센터

Evaluation of degradation pattern and biocompatibility of PLLA (poly-(L)-lactic acid) membrane and EGF (epidermal growth factor) loaded PLLA membrane in rat dorsal models

You-Kyoung Kim^{1†}, Yin-Zhe An^{1†}, Mi-kyung Kwon², Ji-hoon Yoon², Yoeng-Ku Hoe², Jae-Kook Cha¹, Jung-Seok Lee¹, Ui-Won Jung¹, Seong-Ho Choi¹

Department of Periodontology, Research Institute for Periodontal Regeneration, College of Dentistry, Yonsei University¹, Neobiotech, Research and Development Center².

† These authors contributed equally to this study.

Corresponding Author: Seong-Ho Choi, DDS, PhD.

Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea

Tel: +82-2-2228-3189, Fax: +82-2-392-0398,

E-mail: shchoi726@yuhs.ac

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the biodegradation including biocompatibility of differently made membranes, PLLA (poly-(L)-lactic acid membrane), EGF (epidermal growth factor) loaded PLLA membrane and Biogide (non-cross linked collagen membrane). 30 Wistar white rats (12 weeks of age, weighing about 350 g) were used in total surgical procedures. Totally, 90 membranes were allocated in representing 3 groups: C: Control (Biogide[®] (type I and III porcine collagen membrane, Geistlich-Pharm, Wolhusen, Switzerland), P: PLLA (poly-(L)-lactic acid) and E: E-PLLA (EGF-(epidermal growth factor) loaded poly-(L)-lactic acid). These groups were experimentally divided in five periods: 1, 2, 4, 8 and 12 weeks. The membranes were randomly allocated in subcutaneous pouches separately on the back of the 30 rats. After 1, 2, 4, 8 and 12 weeks, the rats were sacrificed and specimen were prepared for histologic and histometric analysis. The following parameters were evaluated : (1) residual membrane thickness, (2) the morphology of membranes, (3) tissue integration and foreign body reaction. Histologically, the residual membranes were gradually degraded in control group showing tissue integration with surrounding tissue but the almost all membranes of PLLA and E-PLLA group were not degraded.

The thickness of membranes decreased continuously in control group, however thickness of PLLA and E-PLLA increased due to amorphous area from its fragmented polymer. Connective tissue integration was achieved in control group however complete separation was observed in PLLA and E-PLLA group. No vascularization was found in both experimental group. One inflammatory reaction was observed in 8 weeks of PLLA group.

Within the limits of the present study, degradation of PLLA membranes was much slower than control membranes. Space maintenance and cell occluding ability of PLLA is so superior that PLLA membrane can be used in cases which require high space-maintaining capacity in GTR and GBR. However biocompatibility of PLLA was not completely proved, therefore enhancement of biocompatibility is needed. In this study, E-PLLA enhanced wound healing and tissue regeneration. Long-term evaluation and studies to prove degradation ratio of PLLA in further study.

Key words: Biocompatibility, Collagen membrane, Epidermal growth factor, Guided tissue regeneration, Poly-(L)-lactic acid

I. Introduction

결손된 치주 조직 및 임플란트 주위 조직을 회복시키기 위한 조직 유도 재생술 (GTR: Guided Tissue Regeneration) 은 현재 임상에서 널리 이용되고 있다. 차단막을 사용하여 건전한 조직을 재생시키는 조직 유도 재생술은 다양한 임상 결과와 함께 가장 예지성이 높은 치주 조직 재생 술 식으로 받아들여진다¹⁾. 차단막은 생체 친화성, 공간 유지 능, 세포 차단능, 조직 용화도, 임상 적용의 용이성 등이 요구되며²⁾ 크게 흡수성 차단막과 비흡수성 차단막으로 나눌 수 있는데 이 중, 비흡수성 차단막의 경우 제거를 위한 추가적인 수술이 요구되므로 현재에는 흡수성 차단막의 사용이 보편화되고 있다³⁾.

흡수성 차단막은 결손부의 형태 및 재료의 종류에 따라 3 - 12개월의 기간 동안 흡수되는데⁴⁾ 그 중 콜라겐 차단막은 세포 부착성을 증진시키고, 생리적인 체내 흡수성, 조작 용이성, 낮은 면역 거부 반응, 높은 생체 친화성 등의 장점으로 인해 가장 보편적으로 사용되고 있다⁵⁾. 주로 소나 돼지의 type I, III 콜라겐이 많이 사용되며, 차단막의 인장력, 유연성과 같은 기계적 성질과 세포와의 융합도, 생리적 흡수도 등의 특성은 콜라겐의 분자 구조 및 섬유 미세 구조, 가교 방식에 따라 달라진다. 급속한 흡수로 인해 조직 재생을 위한 충분한 시간 및 공간을 확보하지 못하는 점은 콜라겐 차단막의 가장 큰 단점으로 지적되어 가교화를 통해 흡수를 지연시키는 방법 등이 개발되고 있다⁶⁾. 그러나 가교화가 많이 될수록 혈관 형성 및 조직과의 융합이 지연되는 생체 친화성의 문제도 고려되어야 한다⁷⁾.

흡수성 합성 차단막은 다양한 공중합체의 단일 또는 혼

합체로 형성되어 개발, 사용되고 있으며 poly lactic acid (PLA)는 가장 많이 사용되는 재료중의 하나이다. Poly-(L)-lactic acid (PLLA)는 (D)-form과 (L)-form의 두 가지 광학분자로 존재하는 PLA의 한 종류로서 체내 흡수성, 흡수도의 조절 가능성, 낮은 강도, 제작 용이성, 사용 편의성, 약물 방출의 carrier로서의 기능 등 다양한 장점으로 인해 널리 사용되고 있다^{4,8)}. 그러나 높은 취성으로 인해 부서짐이 발생하고, 흡수 부산물로 인해 염증성 이물 반응 (inflammatory foreign-body reaction) 생기는 단점이 있어 여러 가지 보완을 통해 사용하려는 연구가 진행되고 있다⁹⁾.

Epidermal growth factor (EGF)는 치유를 유도하는 주요한 성장 인자의 하나로 목표 세포 (target cell) 의 receptor에 대한 친화성이 높아 부착 시 해당 세포의 유전자 발현을 변형 또는 촉진시키는 기전으로 해당 세포의 분열 및 이동, 단백질 발현 및 효소의 생성을 유도한다¹⁰⁾. EGF는 체액 및 혈소판에 있는 성장인자로 내피세포 (endothelial cell), 중간엽 세포 (mesenchymal cell) 및 상피 세포 (epithelial cell)에 작용하여 혈관 생성 및 세포 분열을 유도하고 세포의 기질의 생성 및 흡수에 영향을 미치고¹¹⁾ 화학 주성을 있어 염증세포 및 섬유모세포의 성장을 분화와 증식을 유도하여 상처의 치유를 촉진시키는 기능을 한다¹²⁾. EGF가 차단막에서 점진적으로 방출될 경우 이식부위의 조직 친화성 및 상처 치유능을 향상시킬 것으로 고려된다.

본 연구에서는 쥐의 등 상피하 조직에서의 PLLA 및 EGF가 탑재된 PLLA 차단막을 이식하여 이식재의 흡수양상 및 생체 친화도를 평가하고자 한다.

II. Materials and methods

1. 연구재료

1) 실험 동물

본 연구에서는 생후 11주차의 330~370 g의 흰 쥐 (Wistar albino rat) 30마리를 사용하였다. 실험 동물의 선정, 관리, 외과적 처치는 연세대학교 의과대학 임상의학 연구센터의 지침에 따라 시행하였다 (승인번호: #2015-0071).

2) 실험 재료

PLLA 차단막은 분자량 300 kD인 PLLA 500 mg을 1,4-dioxane (15 mL)에 첨가하고 80°C에서 교반한 뒤 NaCl을 첨가하고 진공건조 시킨 뒤 NaCl을 제거하는 염 침법으로 제조하였다. 헤파린-도파민 나노입자를 PLLA 차단막에 고정시킨 뒤 0.6 Wt% 비율로 EGF를 담지하여 EGF를 탑재한 PLLA를 제조하였다. 제조된 PLLA 및 EGF 탑재된 PLLA 차단막은 10 mm 직경의 원형으로 제작하였고 두께는 350 ± 50 μ m로 측정되었다. 또한 대조군으로 돼지 유래 콜라겐 type I, III로 만들어진 두께 약 400 μ m의 Biogide (Geitlich, Wolhusen, Switzerland)를 사용하였다.

2. 연구 방법

1) 실험군 설정

쥐의 등에 3개의 피하 주머니를 형성하고 다음과 같이 구분하여 처치하였다. 각 군은 1, 2, 4, 8, 12주군으로 나누어

(1) 대조군 : Biogide (non-cross linked 콜라겐 차단막) 이식

(2) 실험군 1 : PLLA 차단막 이식

(3) 실험군 2 : EGF 탑재된 PLLA 차단막 이식

2) 수술부의 형성 및 처치

실험 동물을 4%의 isoflurane으로 호흡 마취시킨 뒤 15 mg/kg zoletile과 10 mg/kg Xylazine (Rumpun, Bayer Korea Ltd., Seoul, Korea)을 복강 내 투여하여 전신 마취하였다. 수술 부위 털을 제거한 뒤 povidone iodine으로 소독하고 쥐 등의 정중부를 scissor를 이용하여 5 cm 길이로 절개하였다. 절개한 정중선을 기준으로 좌우 3개의 피하 주머니를 서로 분리되도록 형성하였다. 직경 10 mm로 형성된 차단막들은 무작위로 배정하여 3개의 피하 주머니에 삽입하고 4-0 vicryl을 이용하여 일차 봉합하였다 (Fig. 1). 술 후 10일간 항생제 enrofloxacin 5 mg/kg을 근육 주사하였으며 투여 1일, 3일, 5일째 소독하였으며 술 후 10일째 발사하였다.

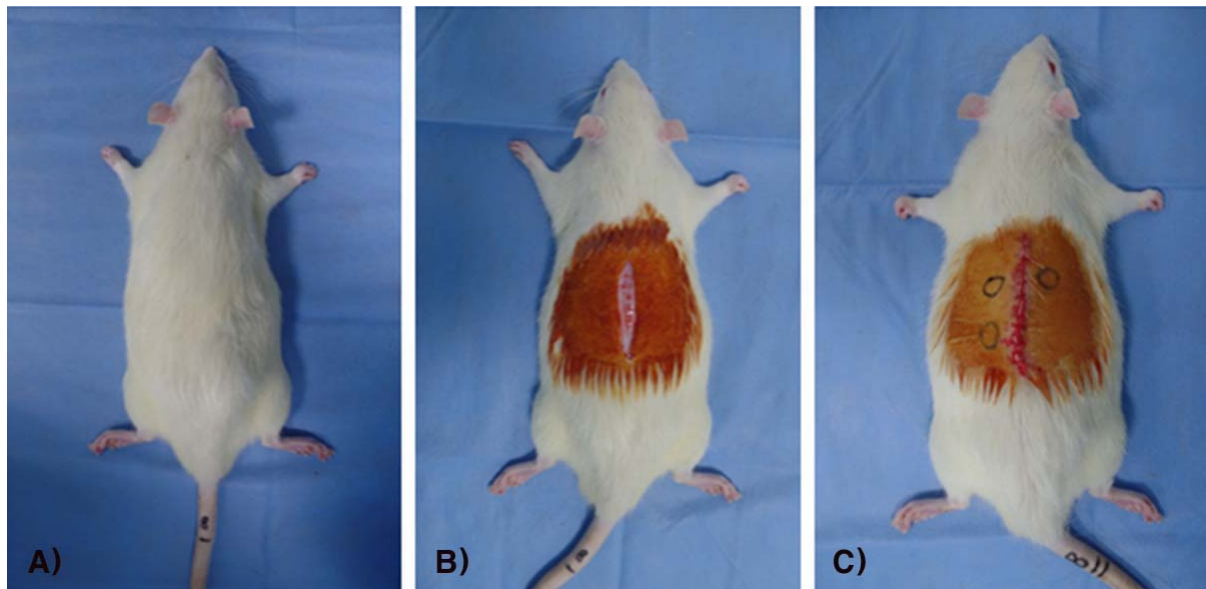


Fig. 1. Surgical procedures. A) Anesthetized animal, B) Central incision of rat back, C) Membrane positioning in the subcutaneous pouches. Each of control, PLLA and E-PLLA membrane was randomly positioned in the subcutaneous pouches of rat back. Primary closure was achieved using 4-0 vicryl.

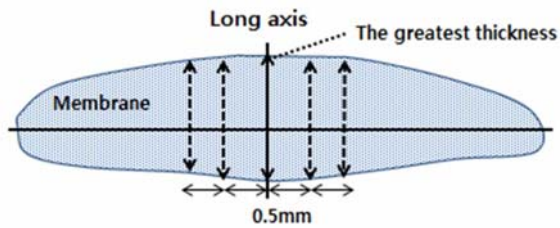


Fig. 2. Schematic diagram of histometric analysis.

3) 평가방법

(1) 임상적 관찰

수술 1, 2, 4, 8, 12주간 수술 부위의 특이 사항 및 염증 소견, 이식재의 노출 여부, 이상 반응을 육안으로 관찰하였다.

(2) 조직학적 관찰

수술 1, 2, 4, 8, 12주 후 실험군별 실험 동물 6마리를 cage에 넣고 CO₂ 를 3분간 주입하여 안락사 하였다. 차단막을 이식한 등의 피부를 절제하여 이식편을 포함한 피하 조직을 약 2x2 cm크기로 절제하여 10% 중성 포르말린 용액으로 고정시키고 파라핀에 포매하였다. 표본을 7 µm 두께로 절단하고 hematoxylin-eosin (H&E) 으로 염색하여 광학현미경으로 40배, 200배 배율로 관찰하였다.

(3) 조직계측학적 분석

이미지 분석 프로그램 (Image-Pro Plus, Media cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA)을 이용하여 다음의 과정에 따라 차단막의 두께를 측정하였다 (Fig. 2).

- ① 블록 표본상 차단막에서 가장 두꺼운 부위를 차단막의 장축으로 설정하여 두께를 측정하였다.

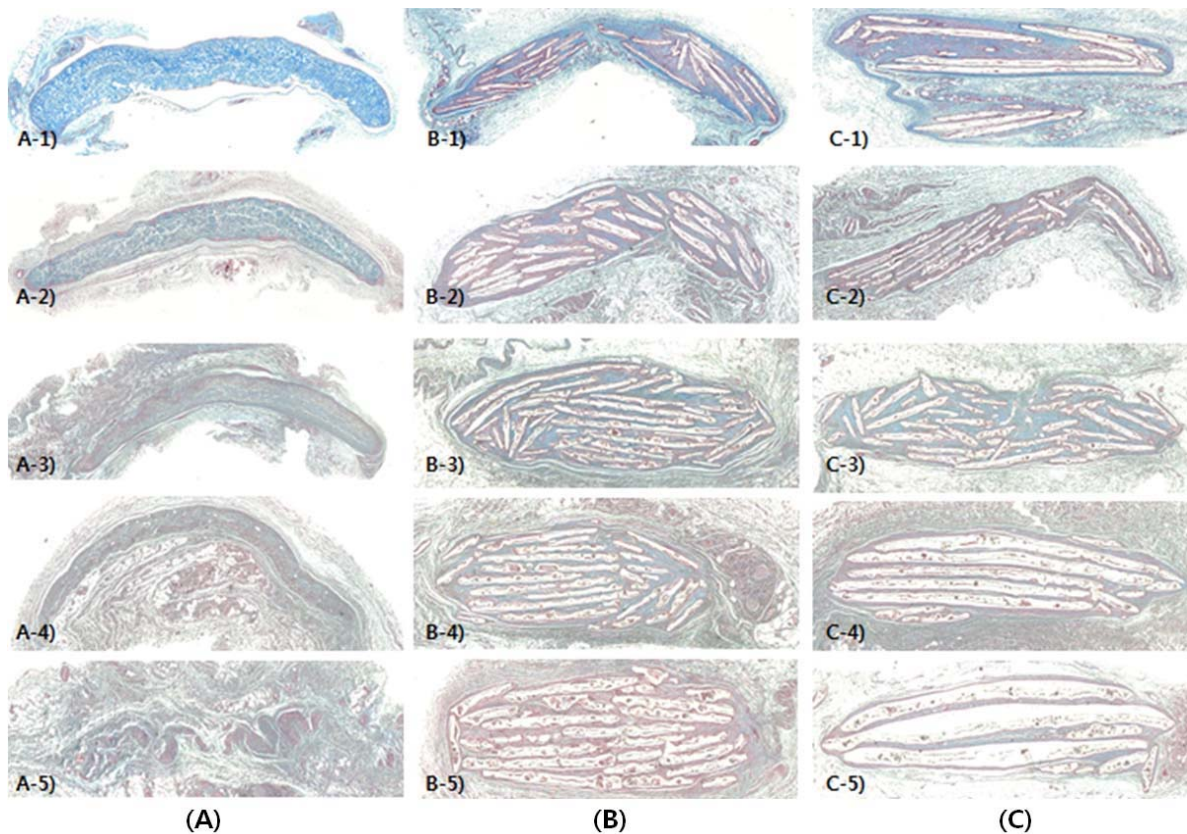


Fig. 3. Histologic analysis of each membrane during 12 weeks. (A) Control (B) PLLA (C) E-PLLA.

-1) post-op 1wk, -2) post-op 2wks, -3) post-op 4wks, -4) post-op 8wks, -5) post-op 12wks. Control group was gradually degraded during 8 weeks and majority of the membrane was integrated with surrounding connective tissue at 12 weeks. PLLA membrane was separated with adjacent connective tissue and internal membrane consists of fragmented polymers from crystals of PLLA and voids during 12 weeks. No complete degradation was observed. E-PLLA membrane was also separated with adjacent connective tissue however, empty spaces among the rearranged PLLA fragments were larger than those of PLLA group (H&E staining; magnification × 40).

- ② 차단막의 두께는 장축으로 설정한 가장 두꺼운 부위 좌우로 0.5 mm 간격으로 4곳으로 측정하여 총 5곳의 두께를 측정하였다¹³⁾.
- ③ 표본의 훼손이 있거나 차단막에 결손이 있는 부위에서의 측정값은 제외하였다.
- ④ 두께의 측정은 모든 시편에서 진행되었고, 각 군에서의 차단막 두께의 평균값을 구하였다.

(4) 통계적 분석

차단막의 종류 및 시기에 따른 두께 측정값을 SPSS 통계분석시스템의 반복측정 분산 분석 (Repeated measures ANOVA)를 이용하여 처리하고, Turkey 방법을 이용하여 분석하였다. P값이 0.05보다 작을 때 통계적으로 유의한 것으로 평가하였다.

III. Results

1. 임상적 관찰

대부분의 이식편에서 혈종, 부종 및 농의 형성과 같은 감염 소견은 관찰되지 않았으나 PLLA 이식 8주군의 1개체에서 혈종이 관찰되었다.

2. 조직학적 관찰 (Fig. 3)

1) 초기 치유 기간 (1, 2, 4주군)

(1) 대조군

차단막은 초기 1-2주 동안 결합조직으로 둘러싸였으나 조직과의 융합없이 분리된 양상이 관찰되었다. 4주째에 결합조직이 차단막 안쪽으로 침투하기 시작하여 점진적인 차단막의 흡수가 진행되기 시작하였다. 1-4주간의 초기 치유 기간 동안 주변의 결합조직에서의 혈관 형성은 관찰되지 않았다.

(2) PLLA 차단막군

1-4주의 초기 치유 기간 동안 차단막은 주위의 결합조직으로 둘러싸였으나 혼화되지 않고 뚜렷한 경계를 통해 분리된 양상이 관찰되었다. 내부의 중합체 조각들이 배열되면서 입자화된 PLLA 조각들도 관찰되었다. 1, 2 주째보다 4주째에 빈 공간들로 인해 차단막이 팽윤된 양상이 관찰되었다.

(3) E-PLLA 차단막군

PLLA 차단막과 유사하게 주위 조직과 뚜렷한 경계를 보이며, 차단막 내부의 중합체들이 무질서하게 배열되면서 중합체 조각들 간의 공간이 넓어지면 차단막의 두께가 증가한 양상이 관찰된다.

2) 후기 치유 기간 (8, 12주군)

(1) 대조군

4주째부터 진행되던 주위조직과의 혼화가 이루어지고 8주째에 주위의 지방조직이 차단막 주변에서 관찰된다. 12주째에 지방조직 및 결합조직이 침투하고 차단막 초기의 외형이 무너지며, 주변 조직과 혼화되어 거의 흡수되는 양상을 보이고 주변조직에서는 혈관 형성이 관찰되었다.

(2) PLLA 차단막군

8주째에 차단막으로부터 분리된 주변조직에서는 혈관 형성이 관찰되었고 1개의 개체에서 주위조직에서 분리되어 혈관형성이 거의 이루어지지 않은 채 차단막 내부에 혈종이 형성되어 있는 양상이 관찰되었다 (Fig. 4). 12주째까지 주위 조직과의 혼화 및 차단막의 흡수는 거의 관찰되지 않고 전체적으로 두께는 증가하였다.

(3) E-PLLA 차단막군

8주에서 12주에 이르는 기간 동안 조각난 중합체들 간의 공간이 더 넓어진 lamella 구조를 형성하였다. 중합체 간의 빈 공간 내부에 PLLA 입자들이 관찰된다. 차단막 내부는 입자성 PLLA 와 중합체 조각, 조각들 사이의 공간 (void)로 구성되는 반면, 외부 조직과의 분리가 뚜렷하게 관찰되었다. 차단막을 둘러싼 결합조직과 차단막 내부의 기질사이의 거리는 PLLA군에 비하여 가까웠다. 주변에서의 혈관 형성은 관찰되지 않았다.

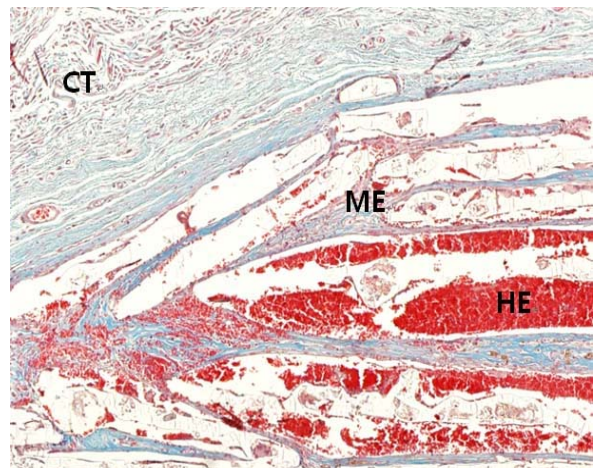


Fig. 4. Histologic analysis of PLLA group in 8weeks. Blood clots were contained in membrane fragments and hematoma formation was observed in 1 specimen of 8 weeks PLLA group. CT : connective tissue, ME : membrane, HE : hematoma (H&E staining ; magnification : $\times 200$).

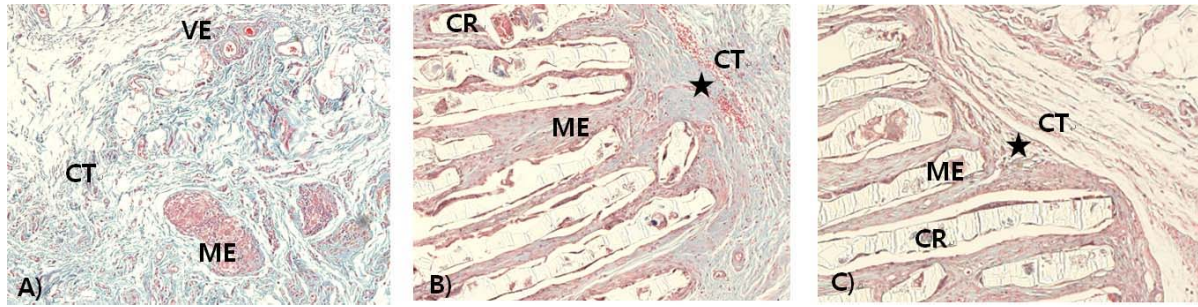


Fig. 5. Histologic analysis of each membrane at 12 weeks. A) Control, B) PLLA, C) E-PLLA. Control group was almost degraded and integrated with surrounding connective tissue and blood vessel formation was observed. Most of PLLA and E-PLLA membrane were not degraded at 12 weeks and sustained its spaces in subcutaneous tissues, however distance between connective tissue and membrane matrix (pointed with star) was closer in E-PLLA than PLLA. CT : connective tissue, VE : vessel, ME : membrane, CR : crystals of PLLA (H&E staining; magnification x 200).

3. 조직계측학적 분석

각 군에서 1, 2, 4, 8, 12주 희생 시기에 따른 차단막의 두께를 기록하였다 (Table 1).

Table 1. Thickness of residual membrane. C) control, P) PLLA, E) E-PLLA, Based on observed means.

	C	P	E
1 wk	0.9±0.14	0.58±0.05	1.2±0.08
2 wk	0.93±0.06	0.76±0.03	0.65±0.02*
4 wks	0.67±0.03	0.85±0.02	0.86±0.04
8 wks	0.49±0.03	0.89±0.03*	0.89±0.03*
12 wks	0.19±0.02	0.87±0.07*	0.94±0.07*

(mm)

* Statistically significant difference from control group

대조군의 경우 초기에는 두께가 증가하였으나 시간 경과에 따라 두께가 현저히 감소하였고, 2개의 실험군에서는 실험 기간 동안 변화가 두드러지지 않았다.

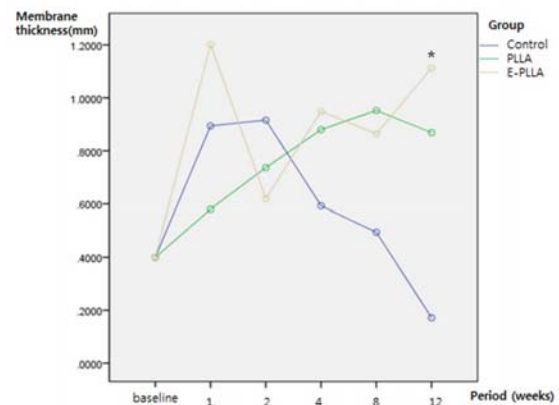


Fig. 6. Statistical significance among each groups.

Table 2. The mean difference was at the level 0.05 level (P=0.05). Significant difference(*) is observed between control and E-PLLA group.

(I) group	(J) group	평균차이(I~J)	표준오차	유의확률	95% 신뢰구간	
					하한	상한
control	PLLA	-.158158	.0666145	.096	-.344146	.27829
	E-PLLA	-.279642*	.0725206	.010*	-.482120	-.077164
PLLA	control	.158158	.0666145	.096	-.027829	.344146
	E-PLLA	-.121483	.0758439	.294	-.333240	.090273
E-PLLA	control	.2796428*	.0725206	.010*	.077164	.482120
	PLLA	.121483	.0758439	.294	-.090273	.333240

4. 통계 결과

대조군과 실험군에서의 차단막의 두께에서 대조군과 실험군의 두께 변화에 대한 평가에서 대조군과 E-PLLA 군간의 흡수 양상은 유의확률 0.01로 유의미한 차이가 있었다 ($P=0.05$) (Table 2, Fig. 6).

IV. Discussion

본 연구의 목적은 기존에 널리 사용되고 있는 비 가교화된 콜라겐 차단막과 비교하여 흡수성 합성 차단막의 시간 경과에 따른 흡수 양상을 분석하는 것으로 이식 부위에서의 차단막의 두께, 주위 조직과의 혼화도, 혈관 형성, 조직의 침투 양상 관찰을 통하여 각 차단막의 시간경과에 따른 흡수도 및 혈관 형성, 조직융합도, 면역 거부 반응을 바탕으로 한 생체친화성을 평가하고자 하였다. 쥐의 피하 주머니 모델은 골이식이 필요하지 않은 차단막의 흡수도를 평가하는데 널리 사용되고 있다^{13,14}.

대조군인 비 가교화된 돼지 유래 콜라겐 type I, III로 구성된 콜라겐 차단막은 주위 조직과의 완전한 혼화를 보이며 4주경부터 빠른 흡수양상을 보였다. 이는 대조군에 대한 기존의 연구¹⁵에서 차단막 이식 후 4-8주 안에 중등도의 흡수양상을 보인다는 결과와 일치하는 결과이다. 면역 거부 반응 및 염증 반응이 거의 없이 빠른 혈관화와 연이은 차단막의 흡수는 대조군인 Biogide의 특징적인 소견으로 알려져 있는 것과 같이¹⁵ 본 연구에서도 대조군에서 염증 및 면역 거부 반응은 관찰되지 않아 콜라겐 차단막의 생체 친화성은 우수한 것으로 사료된다. 또한 콜라겐 차단막의 기공 구조 (porous structure)는 조직 유도 재생술 (GTR) 및 골 유도 재생술 (GBR)에 사용할 때 차단막을 통과하는 성장인자 또는 영양분으로 인해 조직 유도 재생에 유리한 환경을 조성한다는 장점이지만¹⁶ 빠른 흡수로 인해 하방의 공간 확보 및 유지 기간의 부족 등에 대한 대안이 필요하다.

PLLA 차단막은 효소 활성 없이 체내에서 흡수되며 여타의 다른 합성 재료들에 비해 생체 친화성이 우수한 재료로 보고된다⁹. 적절히 조절된 환경 하에서 반복적인 제조가 가능하므로 공급량에 있어서 제한이 없다는 점이 장점으로 부각되며, 물리, 화학적 변형을 통해 물성을 조절할 수 있다는 점으로 인해 널리 연구되고 있다. 체내와 같은 생체 환경 하에서 ester-linkage의 수화 (hydrolysis)로 인해 분해가 진행되고 분해 부산물이 체내 수분 또는 이산화탄소 (CO_2)에 의해 대사되거나 신장을 통해 배설된다¹⁷. 그러나 분해 산물이 대사되거나 제거되지 않을 경우에 중합체 분해에 따른 단량체의 산성 말단이 산성 환경을 만들어 국소적 염증 반응을 일으키기도 하는데¹⁸ 본 연구에서 PLLA 적용 8주군에서 혈종 형성 및 염증 반응

도 이와 같은 분해 대사물이 원인으로 고려된다. 다른 합성 재료에 비해 친수성이 떨어지고 (hydrophobicity) 초기 반응 동안 내부 중합체의 분해에 따른 입자 및 내부 공간이 형성되거나 외부 조직과 융합되는 후기 분해 반응은 6개월 이상 소요된다. PLLA를 골조직에 이식한 결과에서는 최대 3년까지 흡수가 완전히 일어나지 않았다는 보고가 있으며 1년까지 유지되는 결과를 보여준 바 있다⁹. 차단막의 지나친 장기 유지가 흡수성 차단막으로서의 장점을 가지지 못하여 흡수성을 조절하는 연구가 필요할 것이다. 본 연구의 결과에서 보이듯이 12주간의 이식기간 동안 PLLA 및 EGF 탑재 PLLA 차단막의 두께는 증가하였고 차단막의 내부 구조는 선형의 결정구조로 재배열 되었다. 선형 구조간의 간격은 점차적으로 증가되었는데 이는 PLLA 중합체가 초기에 수화되면서 작은 단위로 분해될 때, 입자간 무정형의 공간 (amorphous region)이 생기고 개별입자의 분자량은 감소하나, 입자성은 증가하면서 전체적인 부피가 증가한 것이다⁹. 내부 구조간 기공 면적이 늘어난 것으로 파악되며 두께가 감소하지 않았다고 해서 흡수가 되지 않은 것으로 볼 수는 없다. 차단막 내부에서의 흡수는 일어나지만 외부 조직과의 분리는 두드러진 양상을 보여 장기간 외부 조직을 차단하고 공간을 유지하는 기능을 하기에는 유리한 것으로 평가된다.

차단막은 기공 구조를 통해 치주조직의 재생을 위해 상피 세포의 이주를 차단¹⁹할 뿐만 아니라 세포의 선택적인 이주를 촉진하기 위한 성장 인자, 영양분의 침투를 가능하게 하여 혈소판 유래 성장인자, 인슐린 유사 성장인자 등을 차단막에 탑재하여 세포의 증식 및 분화를 촉진시켜 온 연구들이 진행되어 왔다^{20,21}. 고농도의 성장인자를 차단막에 탑재하여 이식 기간 동안 조직 내에 성장인자의 농도가 유지되도록 하여 치유를 촉진하고 조직을 재생시키는 결과를 얻었다²². 본 연구에 사용된 EGF는 상피세포, 섬유모세포, 내피세포 등에 작용해 세포 분열을 유도하고 치유를 촉진하는 기능을 한다. EGF를 탑재한 PLLA 군에서 EGF가 점진적으로 조직으로 방출되면서 12주째의 조직학적 분석에서 PLLA 이식군에 비해 차단막을 둘러싼 결합조직이 차단막 쪽으로 성장해 들어왔을 것으로 고려할 수 있다. 이는 EGF가 PLLA 차단막을 둘러싼 주위 조직의 분화 및 증식을 촉진해 빠른 치유를 유도한 것으로 생각된다. 그러나 차단막의 흡수 자체에는 영향을 미치지 않으며, 장기간 동안의 흡수 결과에 대한 추가적인 연구가 필요할 것이다.

V. Conclusions

1. 본 연구의 한계 내에서 PLLA 차단막은 콜라겐 차단막과 비교하였을 때 12주 이상 장기간 흡수되지 않아 차단막 하부의 공간 유지능이 우수하여 재생을 위한 장

기간의 공간 유지가 필요한 경우 사용될 수 있다. 그러나 과도하게 장기간 흡수되지 않을 때 흡수성 차단막으로의 기능을 할 수 없으므로 흡수도를 조절할 수 있는 추가적인 연구가 필요하다.

2. PLLA 차단막은 수화를 통해 생체 친화적으로 흡수되거나 주위 조직 산성화에 의한 염증반응에 대한 보완이 필요하다.
3. EGF를 탑재한 PLLA차단막은 외부 조직을 차단하면서 주위조직의 증식 및 성장, 분화를 촉진하여 재생을 유도하고, 치유를 촉진시키는 기능을 하여 성장인자를 탑재한 carrier로서의 기능을 적절히 수행한다.

Acknowledgements

본 연구는 산업통상자원부의 보건 의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임 (과제번호 : 10043624).

Reference

1. Lundgren AK, Sennerby L, Lundgren D, Taylor A, Gottlow J, Nyman S. Bone augmentation at titanium implants using autologous bone grafts and a bioresorbable barrier - An experimental study in the rabbit tibia. *Clin Oral Implants Res* 1997;8:82-9.
2. Zupancic S, Kocbek P, Baumgartner S, Kristl J. Contribution of Nanotechnology to Improved Treatment of Periodontal Disease. *Curr Pharm Des* 2015;21:3257-71.
3. Ling LJ, Hung SL, Lee CF, Chen YT, Wu KM. The influence of membrane exposure on the outcomes of guided tissue regeneration: clinical and microbiological aspects. *J Periodontol Res* 2003;38:57-63.
4. Xu B, Gao R, Yang Y, Cao X, Qin L, Li Y, et al. Biodegradable Polymer-Based Sirolimus-Eluting Stents With Differing Elution and Absorption Kinetics: The PANDA III Trial. *J Am Coll Cardiol* 2016;67: 2249-58.
5. Hammerle CH, Jung RE. Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontol* 2000 2003;33:36-53.
6. Charulatha V, Rajaram A. Influence of different crosslinking treatments on the physical properties of collagen membranes. *Biomaterials* 2003;24: 759-67.
7. Bunyaratavej P, Wang HL. Collagen membranes: a review. *J Periodontol* 2001;72:215-29.
8. Shi X, Jiang J, Sun L, Gan Z. Hydrolysis and biomineralization of porous PLA microspheres and their influence on cell growth. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2011;85:73-80.
9. Walton M, Cotton NJ. Long-term in vivo degradation of poly-L-lactide (PLLA) in bone. *J Biomater Appl* 2007;21:395-411.
10. Wayne K. Stadelmann Mea. Physiology and Healing Dynamics of Chronic Cutaneous Wound. *The American Journal of Surgery* 1998;176(Suppl 2A).
11. Khanbanha N, Atyabi F, Taheri A, Talaie F, Mahbod M, Dinarvand R. Healing efficacy of an EGF impregnated triple gel based wound dressing: in vitro and in vivo studies. *Biomed Res Int* 2014;2014:493732.
12. Greenhalgh DG. The role of growth factors in wound healing. *J Trauma* 1996;41:159-67.
13. Moses O, Vitrial D, Aboodi G, et al. Bio-degradation of three different collagen membranes in the rat calvarium: a comparative study. *J Periodontol* 2008;79:905-11.
14. Rothamel D, Schwarz F, Sager M, Herten M, Sculean A, Becker J. Biodegradation of differently cross-linked collagen membranes: an experimental study in the rat. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:369-78.
15. Owens KW, Yukna RA. Collagen membrane resorption in dogs: a comparative study. *Implant Dent* 2001;10:49-58.
16. Hurley LA, Stinchfield FE, Bassett AL, Lyon WH. The role of soft tissues in osteogenesis. An experimental study of canine spine fusions. *J Bone Joint Surg Am* 1959;41-A:1243-54.
17. Agarwal M, Koelling KW, Chalmers JJ. Characterization of the degradation of polylactic acid polymer in a solid substrate environment. *Biotechnol Prog* 1998;14:517-26.
18. Nyska A, Brami CT, Maronpot RR, Ramot Y. Histopathology of biodegradable polymers: challenges in interpretation and the use of a novel compact MRI for biocompatibility evaluation. *Polym Adv Technol* 2014;25:461-7.
19. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J Clin Periodontol* 1982;9:257-65.

20. Lynch SE, de Castilla GR, Williams RC, Kiritsy CP, Howell TH, Reddy MS, et al. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol* 1991;62: 458-67.
21. Selvig KA, Wikesjo UM, Bogle GC, Finkelman RD. Impaired early bone formation in periodontal fenestration defects in dogs following application of insulin-like growth factor (II). Basic fibroblast growth factor and transforming growth factor beta 1. *J Clin Periodontol* 1994;21:380-5.
22. Park YJ, Ku Y, Chung CP, Lee SJ. Controlled release of platelet-derived growth factor from porous poly(L-lactide) membranes for guided tissue regeneration. *J Control Release* 1998;51: 201-11.