

누드마우스에서의 사람탈회상아질기질 과립에 의한 골유도

¹리빙웰 치과병원 ²북해도 구강악안면 외과, 치과 대학, 보건 과학 대학. ³북해도 공업 연구소
김현철¹, 무라타 마사루², 아카자와 토시유키³

서 론

외상, 감염, 종양 및 발육장애에 의한 골결손은 골수복을 위한 골이식재를 필요로 한다. 골이식재료로는 자가이식, 동종이식, 이종이식 및 인공재료 등이 있지만 이 중 가장 이상적인 골이식재는 자가골임에 변함이 없다. 그러나 한정된 양과 술후에 환자가 경험하는 동통을 포함한 불편감과 술 후의 합병증의 발생 가능성 때문에 골형성(osteogenesis)을 위한 골형성촉진 능력을 가진 다른 이식재료 연구가 계속되고 있다. 골유도에 의한 골형성은 복잡한 분자의 상호작용, 세포의 전달 메세지, 조골세포와 파골세포의 활성속도 또는 지속시간의 영향에 의해 조절될 뿐만 아니라 특수한 세포의 증식, 분화 및 주화성(chemotaxis)에 의해서도 조절된다. 또한 골형성 단백질(Bone Morphogenetic Protein, BMP) 와 같은 국소적 자극요소가 세포증식을 촉진시킨다는 보고도 있다. 최근에 생체 유래 재료의 안전성에 대한 관심이 높아지고 있으며 자가혈액이나 자가 세포·조직을 이용해 조직 재생을 촉진하는 연구가 진행되고 있다.

자가이식재료의 하나인 탈회상아질기질의 관심이 증가하고 있다. 자가탈회상아질기질(Autogenous demineralized dentin matrix, ADDM)이 신생골을 유도한다는 결과가 보고되었으며^{1,2)}임상에 활용되기 시작하였다³⁻⁵⁾.

사람의 치아 상아질에는 직경 0.9~2.5 μ m의 상아 세관이 1mm² 중 2만개에서 5만개 존재하며, 유기질은 중량비로 약 20%를 차지하고 그 주성분은 골조직과 같은 I형 콜라겐이다. 상아질의 골유도 활성 물질이 BMP라는 것이 분자 수준에서는 증명되지 않았지만 transforming growth factor- β (TGF- β)나 basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin-like growth factor (IGF) 등의 골형성을 촉진하는 성장 인자를 함유 하고 있는 것이 명확히 되어있다^{6,7)}. 현재까지 포유동물 상아질의 골유도 활성은 실증되고 있지만, 사람의 탈회동결건조 상아질의 골유도는 조직학적으로 보고가 적은 편이다.

본 연구는 사람의 발거치아로부터 탈회동결건조 상아질기질 과립(particulated demineralized dentin matrix, DDM)을 제작하여 누드 마우스 배부 피하에 이식하여 DDM 자체의 골유도능을 조직학적으로 관찰하는 것을 목적으로 했다.

재료 및 방법

1. 실험동물과 사육

실험동물은 북해도 대학의 동물실험센터의 웅성, 4주령의 누드 마우스(체중: 약 30g) 3 마리를 사용했다. 1주간의 검역 기간을 거쳐서 전신적으로 이상이 없는 것을 확인한 후 실험에 이용했다. 동물은 실온 평균 24℃, 명암 12시간 주기의 환경에서 고형 사료와 물을 자유롭게 주어 사육했다. 북해도 대학교 실험동물위원회의 방침 및 동물실험 관련 법규를 준수하였다

Corresponding author : **Hyoun-Chull Kim**
LivingWell Dental Hospital, Ju yeop dong Hyo won Building 110
Il-san gu Go-yang si, Kyeong-gi do, Korea
Tel: +82-31 916-8020, E-mail: Livingwell@paran.com

Received Jan5,2011 Revised May10,2011
Accepted Jun10,2011

2. 사람탈회상아질의 준비

생활치인 제3 대구치를 발거한 후, 저온 골분쇄기를 이용해 액체 질소 냉각하에서 분쇄하여, 입경 0.4~0.8mm 크기를 준비하였다. 그 후, Reddi등⁸⁹⁾ 방법을 일부 개량하여, 단백 분해 효소 저해제를 이용해, 세정을 90분 (1 M NaCl, 0.05 M Tris-HCl, pH7.4), 탈지를 180분 (1급 Chloroform/1급 Methanol, 1:1), 세정을 60분 (100% Methanol, 50% Methanol), 수세를 60분 (냉증류수), 염산 탈회를 18시간 (pH 2.0), 세정을 60분 (냉증류수), 동결건조를 12시간 행하여 탈회상아질 과립(DDM)을 준비했다(Fig. 1). 조제한 DDM은 70 mg씩 나누어 개량 시린지(1ml tuberculin용)에 넣은 후 -80℃로 동결 보존 했다. 이식직전에 인산 완충액 (phosphate buffered saline: PBS) 100μl를 DDM에 침투시켰다.(Fig. 2)

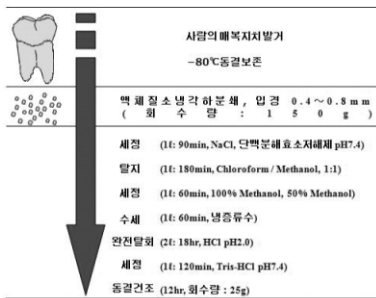


Fig. 1 Preparation protocol of DDM.

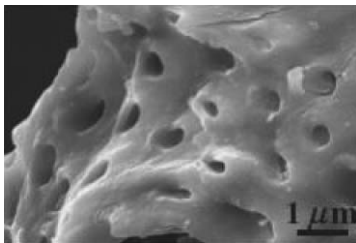


Fig. 2. Preparation protocol of DDM

3. 피하이식

멸균 주사 용수에 희석한 Pentobarbital sodium (NENBUTAL® INJECTION: 43mg/kg, Dainabot Co., Ltd., Japan)를 복강내에 투여해, 전신 마취하에서 배부로부터

측부에 걸쳐 수술 부위의 소독을 실시했다. 이 후, 3 마리 모두 배부 양측으로 각각 2부위씩, 총 4 부위에 약 10mm의 피하 절개를 가해 피하 결합 조직을 둔적 박리한 후 주머니를 형성하여 총 12부위가 실험에 사용되었다. 같은 부위에, 개량 시린지를 이용해 DDM 단독 이식을 실시했다. 이식물은 절개창 부위에서 탈락되지 않도록 절개창으로부터 10mm 거리를 두고 이식하고, 절개창의 재위치 후 나일론 실로 봉합한 후, 수술후의 감염 예방을 위해 항생제 연고를 도포하였다. (Fig. 3)

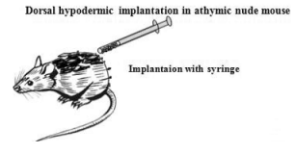


Fig. 3 Implantation method of DDM.

4. 조직학적 관찰

이식 4주 후에 희생시켜, 이식물을 한 덩어리로 적출한 후 10% 중성 완충 포르말린액에 24시간 침지 고정했다. 10% 포름산-구연산 용액으로 3일간 탈회 한 후, 파라핀 포매하여 두께 4μm의 연속 절편을 제작했다. Hematoxylin-eosin(H-E) 염색을 시행하여, 광학 현미경으로 조직학적 관찰 및 Weibel법¹⁰⁾으로 형태 계측을 하였다.

결과

1. 조직학적 관찰(4주 후)

이식체는 얇은 섬유성막으로 덮혀있는 DDM이 치밀 구조를 나타내며 다수의 상아 세관이 관찰되었다.(Fig. 4)

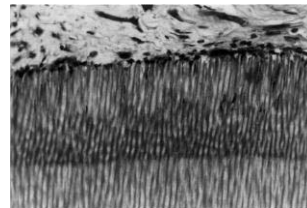


Fig. 4 Histologic findings of implanted DDM after 4 weeks. Undifferentiated mesenchymal cells are observed in the peripheral area of the particulated DDM(H&E staining x 400).

DDM 과립 표면에 신생골이 첨가성으로 형성되어 골아 세포의 규칙적인 배열이 보였다.(Fig. 5) 일부에서는 DDM 과립간을 가교와 같이 연결하는 연골의 형성이 관찰되었다.(Fig. 6) 연골과 골조직은 각각 독립하고 있으며 골수가 형성된 부분도 볼 수 있었다. DDM 과립간에 형성된 간엽조직내의 혈관 주위에는, 방추형으로부터 원형의 미분화간엽세포가 관찰되었다. DDM 표층의 일부에 다핵거세포에 의한 흡수과가 보였지만, 대부분은 잔존하고 있었다. 염증성 세포 침윤은 보이지 않았다.

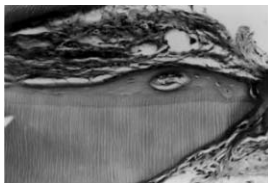


Fig. 5 Histologic findings of implanted DDM after 4 weeks. Appositional forming of new bone is formed on the surface of DDM and regular arrangement of osteoblasts are observed. (H&E staining x 150).

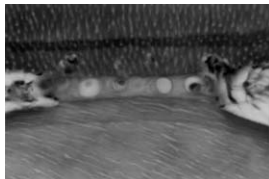


Fig. 6. Histologic findings of implanted DDM 4 weeks. Cartilage is observed between DDM particles as a scaffold. (H&E staining x 150)

2. 형태계측

DDM는 74.7%를 차지하였고 나머지 25.3% 안에 경조직은 1.7%(뼈 0.9%, 연골 0.4%, 골수 0.4%, 미분화간엽조직 23.6%)를 차지하였다(Table 1).

고 찰

1. 탈회상아질의 골유도능

1965년 Urist¹¹⁾에 의한 토끼에서의 염산탈회골의 근육내에서의 골유도 연구가 보고 되었다. 탈회상아질기질에 의한 이소성골유도 현상이 1967년부터 보고되고 있다.

1967년 Yeomans 와 Urist¹²⁾는 토끼의 탈회상아질기질이 근육내에서 미분화간엽계 세포를 골로 유도시킴을 발표하였다. 1970년 Huggins and Urist¹³⁾는 백서의 절치 유래 탈회상아질기질의 복부 피하 조직내에서의 연골·골 유도를 보고했으며 1970년 Huggins 등¹⁴⁾는 돼지, 마우스, 백서 유래 상아질기질의 연골·골유도를 보고했다. 1977년 Butler 등¹⁵⁾는 백서 상아질의 비콜라겐성 단백질이 골유도 활성을 가지는 것을 보고하였고 1986년 Inoue 등¹⁶⁾은, 백서탈회상아질기질의 연골·골유도 현상을 보고했다. 1989년 Kawai 와 Urist¹⁷⁾는 소의 상아질로부터, Bessho 등은 1990년 토끼 상아질로부터, 1991년 사람 상아질로부터 BMP양 물질을 부분 정제 하였다^{8,19)}. 이전에 골유도 물질은, 골기질로부터 부분 정제 되어 BMP라고 명명되었고²⁰⁾, 1988년 Wozney 등²¹⁾에 의해서 BMP의 1차 구조가 결정되었다. 1990년 Wang 등²²⁾에 의해서, recombinant human bone morphogenetic protein(rh-BMP)이 발표된 이래, 현재까지 14 종류의 BMP(BMP-2~15)가 클로닝 되고 있다²³⁾.

국내에서는 치아회분말을 이용한 조직유도 실험을 보고한 논문들이 몇몇 발표되었지만^{24,25)} Reddi 등²⁶⁾은 탈회골기질과 비탈회골기질의 골유도능에 대해 검색한 결과, 탈회치리를 실시하는 것으로 골유도 활성이 높아지는 것을 보고했다. Yasaku²⁷⁾은 상아질에 존재하는 무기 성분이 그 유도능을 방해하고 있는 것을 지적하고, 탈회치리가 골유도능 발현에 중요하다는 것을 보고하였다. 유 등(1995)은 백서의 탈회상아질을 백서에 이식하여 연골내골화와 막내골화가 진행됨을 보고하였고²⁸⁾ 1996년 개 실험에서는 개의 탈회상아질이 임플란트 주위에서 골형성 및 임플란트의 골유착을 촉진시키는 유용한 재료임을 보고하였다²⁹⁾. 탈회치리에 의해 무기질과 세포 성분은 제거되고 상아질의 콜라겐 섬유와 상아 세관이 노출되어 표면적이 증가하는 것이나 항원성이 낮아지는 것³⁰⁾, 탈회 후에도 BMP는 기질에 결합되어 있는 것으로 알려져 있다³¹⁾.

지금까지 백서나 마우스, 토끼, 돼지, 소 유래 탈회상아질기질의 골·연골 유도가 발표되었고, 사람탈회상아질기질 단독이식에 의한 연골·골유도 연구에 관해서는, 1991년 Ihoki³²⁾는 사람탈회상아질기질 과립 30 mg를

Sprague-Dawley 백서 배부 피하에 이식 했지만, 단핵세포의 침윤과 이물 거대세포의 출현을 보였을 뿐, 연골·골유도를 보이진 않았다. 1993년 이와 이³³⁾는 국내 최초로 동결건조한 사람의 탈회상아질기질을 토끼의 하악골 결손에 이식하여 왕성한 골유도와 골전도 능력을 조직학적으로 관찰하였다. 1998년 Ike 등³⁴⁾은 사람탈회상아질기질 과립 70 mg을 젤라틴 캡셀내에 넣어 누드 마우스 대퇴근내에 이식 한 결과, 연골·골유도가 적게 관찰된 것을 언급하고 있지만 조직 사진은 제시되어 있지 않았다. 그들은 DDM이 rhBMP-2의 운반체로서 리사이클 가능한 것을 보고했다. Murata 등³⁵⁾은 사람탈회동결건조 상아질의 골유도 활성을 조직학적으로 보고하였다.

이미 Sato 등³⁶⁾은 Wistar계 백서 배부 피하에 동일한 실험을 실시한 결과, 사람 DDM 단독으로는 과립간에 미분화 간엽세포의 매우 분명한 증식이 관찰되었지만 연골·골유도는 관찰하지 못했던 것과 rhBMP-2 첨가에 의해 확실한 골유도를 얻을 수 있던 것을 보고하였다. 이 경우 백서 배부 피하로의 유도 결과는 Ihoki의 보고와 같았으며 이종간 이식에 있어서의 항원성의 관여와 상아질 BMP의 서방량이 낮음을 생각할 수 있다. 본 실험에서는 사람탈회상아질기질 자체의 골유도능을 조직학적으로 증명하기 위해 면역 반응이 없는 무흉선 마우스를 사용하고, 4주 후에 부분적으로 연골과 골유도를 독립적으로 확인했다. 이상의 고찰로부터, 사람 DDM이 가지는 골유도능은 지극히 낮은 것이 시사되며 확실한 골유도를 위해서는 BMP를 외부 첨가하는 것이나 구조를 보다 효율적으로 바꾸어 표면적을 크게 할 필요성을 생각할 수 있다.

TGF- β 나 bFGF, IGF등의 성장 인자는 골형성을 증강시키는 것으로 알려져 있다. 또 근래에 상아질에는 석회화에 관여하고 있다고 생각되고 있는 osteocalcin이나 osteonectin등의 비콜라겐성 단백질 외에도, 상아질 특유의 단백질인 phosphophoryn 이나 dentin sialoprotein의 존재가 밝혀졌다³⁷⁾. 특히 phosphophoryn 은 상아질에 특이적인 단백질로, 비콜라겐성 단백질 중에서 양이 가장 많아, 석회화에 관여하고 있다고 여겨지고 있다³⁷⁾. 이와 같이, 상아질에는 골형성 신호를 증폭시키는 여러가지 성장 인자가 골조직처럼 존재하고 있는 것이 나타나고 있

지만, BMP의 분자 수준에서의 분류와 함유량에 대해서는 아직까지 명확하지 않다.

2. 이식재의 기하학적 구조와 생체내 흡수성

이식재의 크기나 형태는 골유도에 대해 중요한 인자이다. DDM은 상아질의 형태를 막상이나 과립상으로 하는 것이 가능하다. 1973년 Reddi 등³⁸⁾은, 입자직경 0.42~0.85 mm의 백서탈회골과립 및 탈회상아질 과립과 0.42mm이하의 매우 가는 과립을 만들어 배부 피하로 조직 반응을 비교 검토했다. 그 결과 입자직경 0.42~0.85 mm의 과립이 생체내에서 안정되어 있으며 골형성능이나 alkaliphosphatase의 활성치가 높았음을 보고하였다. 1986년 Inoue 등³⁸⁾은 Wistar계 백서 절치탈회상아질을 role상으로 제작하여, 백서 피하 결합 조직이나 대퇴근, 복직근에 이식 한 결과, 복직근내에서 가장 강한 연골·골유도를 관찰하였음을 보고했다. 본 연구는, Urist 그룹의 실험에 준해 과립상 DDM을 이용했지만, role상으로 제작하면 표면적을 증가시켜, BMP의 서방성과 국소 농도를 높이는 효과가 있을 것이라고 생각된다.

근래에 기질의 구조가 세포 분화에 영향을 주는 것으로 밝혀졌다. 1994년 Murata 등^{39,40)}은, BMP에 의한 골유도 과정은 운반체에 의존해, 연골성 골화 뿐만 아니라 직접 골화가 일어나는 것을 보고했다. 1995년 Kuboki 등⁴¹⁾은 이식물의 기하학적 구조가 골·연골 유도에 있어서 중요함을 보고하였다. 1998년 Murata 등⁴²⁾은 세포·혈관의 침입을 방해하지 않는 기공 지름 150 μ m의 다공질 apatite를 BMP의 운반체에 이용하면 우선적으로 골이 유도되는 것을 보고해, 운반체에 유래하는 국소 환경에 의해서 골이나 연골이 독립해 유도되는 것을 보고하였다. 1961년 Bassett⁴³⁾는 연골아세포나 골아세포의 분화에 영향을 미치는 인자로서 저산소 분압하에서 압력을 더하면 연골이 형성되지만, 고산소 분압하에서 압력을 더하면 골이 형성되는 것을 보고 하고 있다. 즉, 이식재·운반체의 크기나 형태, 구조에 유래하는 미소 환경은, 골아세포나 연골아세포의 분화에 영향을 주는 중요한 인자라고 생각하고 있다.

상아질 기질은 세관 구조를 가져, 횡단면의 1mm² 중에 2

만개에서 5만개의 상아 세관이 존재하지만, 세관 직경은 가늘고, 치수강 근처에서 약 2.5 μ m, 중앙부에서 1.2 μ m, 에나멜질과 상아질과의 경계 부근에서 0.9 μ m이다. 본 연구 결과에서는 과립 표면이나 과립간에만 골·연골 형성이 미량 관찰되었지만, 과립 내부에는 세포 성분이 관찰되지 않고 기존의 상아 세관만이 관찰되었다. 골아세포나 골세포 등 간엽세포는 크기가 10~20 μ m이며, 파골세포의 크기는 20~100 μ m 이상⁴⁰⁾이기 때문에 상아 세관내에 침입 불가능한 것이다. 상아질은 골과 같은 불용성 I형 콜라겐이 주성분이며, 불용성 콜라겐은 트립신등의 단백질 분해 효소에서는 분해되지 않고, collagenase에 의해서 특이적으로 분해된다. 형태 계측에서 전체 조직중 DDM은 74.7%를 차지하고 있었다(Table 1). 천연의 상아질 구조는 세포·혈관의 침입을 저해하는 치밀 구조이며, 생체내 흡수가 매우 낮은 불용성도의 강한 3차원 구조체라고 할 수 있다. 그러나 상아질을 탈회가공 처리하고, 자가이식재로서 골재생에 사용하는 방법은 면역성의 문제가 없으며 흡수성인 장점 등으로 새로운 생물학적 치료법으로 발전할 가능성을 가지고 있다고 생각할 수 있다.

결론

사람탈회상아질 과립 이식에 의한 경조직 유도 현상을 조직 형태학적으로 평가해, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 사람탈회상아질 과립은 누드 마우스 배부 피하에 이식하고 4주 후에 연골과 골을 독립적으로 유도했다.
2. 조직 형태 계측 결과에서 연골은 0.4%, 골조직과 골수조직은 1.3%였다.

사람탈회상아질기질 이식은 골이식재료써의 가능성이 있으며 향후 더 많은 실험이 필요하다고 사료된다.

REFERENCES

1. Bessho K et al. Purification of rabbit bone morphogenetic protein derived from bone, dentin and wound tissue after tooth extraction. J Oral Maxillofac Sur 1990;48:162-9.
2. Kawai T, Urist MR. Bovine tooth-derived bone morphogenetic protein. J Dent Res 1989;68:1069-74.
3. Gomes MF et al. Densitometric analysis of the

- autogenous demineralized dentin matrix on the dental socket wound healing process in humans. Braz Oral Res 2006;20(4):324-30.
4. Tazaki J et al. Autograft of human ooth and demineralized dentin matrices for bone augmentation archives of bioceramics research. Proceeding of the Asia BioCeramics 2008;8:181-4.
5. Kim YK et al. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2010;109:496-503.
6. Finkelman RD et al. Quantitation of growth factors IGF-1, SGF/IGF-II and TGF- β in human dentin. J Bone Miner Res 1990;5:717-23.
7. Cam Y et al. Immunolocalization of acidic and basic fibroblast growth factors during mouse odontogenesis. Int J Dev Biol 1992;36:381-98.
8. Reddi AH, Huggins CB. Influence of geometry of transplanted tooth and bone on transformation of fibroblasts. Proc Soc Exp Biol Med Jull 1973;43:634-7
9. Sampath TK, Reddi AH. Dissociative extraction and reconstitution of extracellular matrix components involved in local bone differentiation. Proc Natl Acad Sci USA 1981;78:7599-603.
10. Weibel ER. Quantitation in morphology, possibilities and limits. Beitr Pathol 1975;155:1-17.
11. Urist MR. Bone formation by autoinduction. Science 1965;150: 893-9
12. Yeomans JD, Urist MR. Bone induction by decalcified dentin implanted into oral osseous and muscle tissues. Arch Oral Biol 1967;12:999-1008.
13. Huggins C, Urist MR. Transplantation: Rapid induction of Alkaline phosphatase and cartilage. Science 1970; 167:896-7.
14. Huggins C et al. Transformation of fibroblasts by allogeneic and xenogeneic transplants of demineralized tooth and bone. J Exp Med 1970;132:1250-58.
15. Butler WT et al. Noncollagenous proteins of a rat dentin matrix possessing bone morphogenetic activity. J Dent Res 1977;56:228-32.
16. Inoue T et al. Induction of cartilage and bone by dentin demineralized in citric acid. J Periodontal Res 1986;21:43-255.
17. Kawai T, Urist M R. Bovine tooth-derived bone morphogenetic protein. J Dent Res 1989;68:1069-74.
18. Bessho K et al. Purification of rabbit bone morphogenetic protein derived from bone, dentin and wound tissue after tooth extraction. J Oral Maxillofac Sur 1990;48:162-9.
19. Bessho K et al. Human dentin-matrix-derived bone morphogenetic protein. J Dent Res 1991;70:171-5.

20. Urist MR, Strates BS. Bone morphogenetic protein. *J Dent Res* 1971;50:1392-1406.
21. Wozney JM et al. Novel Regulators of bone formation: Molecular clones and activities. *Science* 1988;242:1528-33.
22. Wang EA et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:2220-24.
23. Groeneveld EHJ, Burger EH. Bone morphogenetic proteins in human regeneration. *Eur J Endocrinol* 2000; 142:9-21.
24. Kim YK et al. An experimental study on the tissue reaction of toothash implanted in mandible body of the mature dog. *J Korean Assoc Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 1993;15(2):129-36.
25. Kim YK. The experimental study of the implantation of toothash and plaster of paris and guided tissue regeneration using lyodura. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 1996;22(2):297-306.
26. Reddi A H. Bone matrix in the solid state, geometric influence on differentiation of fibroblasts. *Adv Med Phys* 1974;15:1-17.
27. Shigeru Yasaku. Experimental studies of cartilage and bone induction by acid treated dentin transplant. *The Journal of the Tokyo Dental College Society* 1985;85:135-65.
28. Ryu SY et al. Bone formation processes induced by demineralized endochondral and intramembranous bone matrix and dentin matrix. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 1995;21(2):156-74.
29. Ryu SY et al. Effects of demineralized dentin matrix on osseointegration of implants in dogs. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 1996;22(1):15-32.
30. Aizawa M. Transplanted bone and transplantation immunity. *Proceeding of Japanese Society of Pathology* 1973;62:69-98.
31. Urist MR et al. Bone morphogenesis in implants of insoluble bone gelatin. *Proc Nat Acad Sci* 1973;70:3511-5.
32. Ihoki M. Experimental studies on induction of cartilage and bone by human dentin matrix. *Jpn. J. Oral Maxillofac. Surg* 1991;37:1-14.
33. Lee BS, Lee SC. Experimental study of DDM on early healing in mandibular defects. *Kyung Hee Dent J* 1993;15(2):313-24.
34. Ike M, Urist MR. Recycled dentin root matrix for a carrier of recombinant human bone morphogenetic protein. *J Oral Implantolo* 1998;24:124-32.
35. Murata M. Bone Engineering Using Human Demineralized Dentin Matrix and Recombinant Human BMP-2. *J Hard Tissue Biology* 2005;14:80-1.
36. Sato D et al. Bone induction by human demineralized dentin matrix /recombinant human BMP-2 complex implant. *J. Jpn. Soc. Oral Implant* 2002;15:404-11.
37. Ritchie H H et al. Six decades of dentinogenesis research. Historical and prospective views on phosphophoryn and dentin sialoprotein. *Eur J Oral Sci* 1998;106:211-20.
38. Inoue T et al. Induction of chondrogenesis in muscle, skin, bone marrow, and periodontal ligament by demineralized dentin and bone matrix in vivo and in vitro. *J Dent Res* 1986;65:12-22.
39. Murata M. Phenotype expression of BMP-induced cell differentiation is dependent on the matrix-Direct bone formation in porous hydroxyapatite-. *Hokkaido J. Dent. Sci* 1994;15:148-60.
40. Murata M et al. Histopathological studies of heterotopic bone formation induced by BMP carrier composites. *J Hard Tissue Biology* 1994;3:67-72.
41. Kuboki Y et al. Two distinctive BMP-carriers induce zonal chondrogenesis and membranous ossification, respectively, geometrical factors of matrices for cell-differentiation. *Connective Tissue Res* 1995;32:219-26.
42. Murata M et al. Carrier-dependency of cellular differentiation induced by bone morphogenetic protein in ectopic sites. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998;27(5):391-6.
43. Bassett C A L. Influence of oxygen concentration and mechanical factors on differentiation of connective tissues in vitro. *Nature* 1961;190:460-1.
44. Suda T et al. Bone structure. *Bone Biology*, Ishiyaku Publishers. Inc, Tokyo 1985:41-64.

Bone induction of human particulated demineralized dentin matrix in nude mice

Hyoun-Chull Kim¹, Masaru Murata², Toshiyuki Akazawa³

¹LivingWell Dental Hospital

²Department of Oral Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

³Hokkaido Industrial Research Institute

Purpose : The aim of this study evaluated the osteoinductive properties of human demineralized dentin matrix (DDM) in the subcutaneous tissue in nude mice.

Materials & Method : A human demineralized dentin matrix was prepared from extracted vital 3rd molar and implanted into the subcutaneous tissue in nude mice. The demineralized dentin matrix was particulated and its size varied from 400 to 800 μ m. The hard tissue induced by 70 mg of the demineralized dentin matrix was estimated at 4weeks after implantation histomorphometrically.

Result : The demineralized dentin matrix induced bone and cartilage independently. Appositional forming of new bone was formed on the surface of demineralized dentin matrix and regular arrangement of osteoblasts were observed. Cartilage was observed between demineralized dentin matrix particles as a scaffold. Histological examination showed that the demineralized dentin matrix induced bone and cartilage, 0.9% and 0.4% in morphometric analysis, respectively. The demineralized dentin matrix occupied 74.7% in the volume of the total tissues.

Conclusion : This results showed that the human demineralized dentin matrix particles are osteoinductive insoluble matrices. [THE JOURNAL OF THE KOREAN ACADEMY OF IMPLANT DENTISTRY 2011;30(1):9-15]

Key words : Collagen, Dentin, Human, Osteoinduction