

## 비글견의 치조골 결손부에 이식한 2가지 종류의 BMP 함유 골이식재의 치유 비교

장원웅<sup>1</sup>, 김상윤<sup>1</sup>, 김영균<sup>1,2</sup>

분당서울대학교병원 치과 구강악안면외과<sup>1</sup>, 서울대학교 치의학대학원 치의학과, 치의학연구소<sup>2</sup>

### Comparison of healing of two types of BMP-containing bone graft materials grafted in alveolar defects of beagle dogs

Won-Woong Jang<sup>1</sup>, Sang-Yun Kim<sup>1</sup>, Young-Kyun Kim<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Section of Dentistry, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam,

<sup>2</sup>Department of Dentistry & Dental Research Institute, School of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Korea

**Purpose:** To explore the histologic healing process by transplanting two types of bone graft materials, which are equipped with rhBMP-2, into the alveolar bone defect of the beagle dogs.

**Materials and Methods:** First and third premolars of two 2-year-old beagle dogs were extracted, artificially forming alveolar bone defect. O-BMP (Osstem Implant Co. Busan, Korea) and Cowell BMP (Cowellmed Co. Busan, Korea) were grafted in each alveolar bone defect of each beagles, One was sacrificed after four weeks, and the other was sacrificed after eight weeks, observing the tissue healing of the bone grafted.

**Results:** In the beagle dog, which was sacrificed four weeks later, the rate of new bone formation in the O-BMP grafted site was observed at 43.87%, which was greater than 40.72%, the rate of new bone formation in Cowell BMP grafted site. Eight weeks later, the new bone formation rate observed in the remaining dog was 59.56% in O-BMP grafted site and 56.35% in Cowell BMP grafted site.

**Conclusions:** O-BMP and Cowell BMP, which contain rhBMP-2, were transplanted into the extraction socket and displayed good bone formation. It is thought to be useful for ridge preservation and guided bone regeneration. (JOURNAL OF DENTAL IMPLANT RESEARCH 2018;37(1):6-11)

**Key Words:** rhBMP-2, Bone graft material, O-BMP, Cowell BMP

## 서 론

무치악 부위에는 다양한 치조골 결손이 존재하며 임플란트 식립 전 혹은 식립 중에 다양한 골이식술을 통해 수복해야 하는 경우가 많다. 사용되는 골이식 재료들도 다양하며 가장 이상적인 골치유를 보이는 재료를 개발하기 위한 연구들이 오래 전부터 시행되어 왔다<sup>1)</sup>.

골이식재의 종류는 크게 자가골, 동종골, 이종골, 합성골 등으로

나뉘는데, 일반적으로 성공적인 골 형성을 위한 가장 우수한 재료는 자가골로 알려져 있다. 자가골은 골형성(osteogenesis), 골유도(osteinduction), 골전도(osteoconduction) 기능을 모두 가지고 있으면서 면역 거부반응이나 감염 발생 위험이 적으며, 혈행이 불량하거나 광범위한 결손부에 유용하게 적용할 수 있는 가장 이상적인 골이식재이다. 하지만, 이식재 채취를 위한 추가적인 공여부가 필요하고, 공여부에서 발생하는 불가피한 합병증과 채취량에 제한이 있

Received February 26, 2018, Revised June 2, 2018, Accepted June 20, 2018.

©This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

교신저자: 김영균, 13620, 성남시 분당구 구미로 173번길 82, 분당서울대학교병원 치과 구강악안면외과

Correspondence to: Young-Kyun Kim, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Section of Dentistry, Seoul National University Bundang Hospital, 82 Gumi-ro, 173beon-gil, Bundang-gu, Seongnam 13620, Korea. Tel: +82-31-787-7541, Fax: +82-31-787-4068, E-mail: kyk0505@snuh.org

본 연구는 오스템임플란트 위탁연구(06-2017-002)로 진행되었음.

다는 단점이 있다<sup>2)</sup>. 따라서, 이러한 자가골의 단점을 최소화하면서 우수한 골치유를 얻기 위한 조직공학적 연구가 활발하게 이루어졌고, 골이식재에 골형성단백질(bone morphogenetic protein (BMP)을 혼합하여 적용하는 연구가 시행되어 왔다. 골형성단백질(BMP)은 주로 골전도 기능만 보유한 골이식재에 골유도 기능을 부여하기 위하여 다양한 골이식재를 BMP의 운반체로 사용하게 된다. 특히 BMP-2는 체내에서 성장 및 분화 인자로 작용하며, 간엽 줄기 세포들(mesenchymal stem cells)부터 조골세포로 분화하기 까지 모든 골형성 단계에서 광범위하게 작용하며 신생골 형성을 촉진하는 것으로 알려져 있어 임상에서 가장 많이 적용되고 있다<sup>3-7)</sup>.

본 연구의 목적은 비글견의 치조골 결손부에 rhBMP-2를 탑재한 2가지 골이식재를 이식하여 조직학적 치유과정을 탐색하기 위함이다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험 동물

본 연구는 만 2살의 비글견을 대상으로 한 실험을 바탕으로 진행되었다. 전신적 및 구강내 상태가 유사한 2마리의 비글견을 일정 기간 동안 동일한 고형사료(Dog Chow GoldPet, #35520; Cargill-lagripurina Inc., Pyeongtaek, Korea)를 규칙적으로 먹였고, 동물실험 12시간 이전부터 금식 시켰다. 본 연구는 분당서울대학교병원 동물실험윤리위원회의 승인(BA1611-212/072-01) 하에 시행되었다.

### 2. 마취

실험 시 Atropine 0.005 mg/kg (아트로핀황산염, 0.5 mg/mL; Daihan Pharm., Ansan, Korea)을 피하주사하고, 약 15분 후에 Xylazine 0.2 mg/kg (Rompun, Bayer Korea, Ansan, Korea)과 Zoletil 5 mg/kg (Zoletil 50; Virbac S.A., Carros, France)을 근육 주사하였다. 전신마취 유도 후 6.5 size endotracheal tube를 기관 내 삽관하여 마취기(Datex-Ohmeda GE, Helsinki, Finland)에 연결하고 Enflurane 2.2% (Gerolan; Jw-Pharma, Hwaseong, Korea)와 oxygen 3.0 L/min을 사용하여 마취를 유지하였다. 기관삽관 및 마취유도 후 1:200,000 Epinephrine이 함유된 2% lidocaine 1 mL를 편도주변에 국소 침윤하고, 수술 시작 전 항생제로서 Cefazolin 30 mg/kg (Cefazolin; Chong Kun Dang Pharm., Cheonan, Korea)을 근육주사하였다.

### 3. 발치 및 골이식

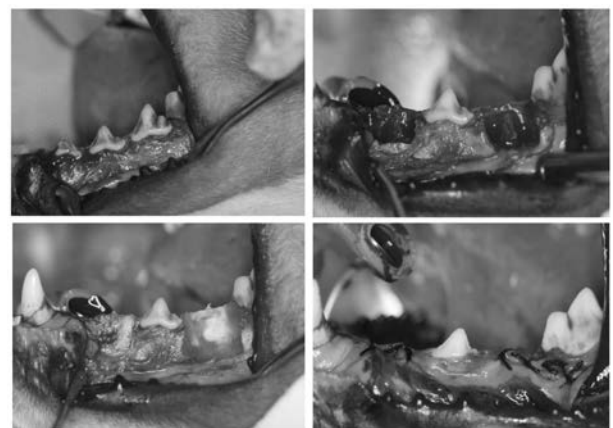
각 비글견의 구강 내를 소독한 후 멸균 방포로 격리시키고 출혈 최소화 목적으로 2% Lidocain HCl (Huons, Seongnam, Korea) (1:100,000 에피네프린 함유) 침윤마취 하에서 발치 기구와 외과용 버(surgical bur)를 이용하여 편측 하악 제1, 3 소구치를

발치하였다. 이후 모두 동일한 크기(길이 13 mm, 폭 8 mm, 깊이 11 mm)와 형태의 직사각형 골 결손부를 인위적으로 형성하였다.

골이식재로는 O-BMP (Osstem implant Co. Busan, Korea)와 Cowell BMP (Cowellmedi Co. Busan, Korea)가 이용되었다. 2마리의 비글견(A, B) 각각의 제1소구치와 제3소구치에 형성한 총 4군데의 골결손부에서 실험군(비글견 A의 제1소구치, 비글견 B의 제3소구치)은 O-BMP를 이식하였고, 대조군(비글견 A의 제3소구치, 비글견 B의 제1소구치)은 Cowell BMP를 이식하였다. Cowell BMP의 경우  $\beta$ -TCP/HA가 rhBMP-2의 운반체로 사용되는데,  $\beta$ -TCP/HA의 표면에 rhBMP-2가 코팅되어 있으며 사용 시 Cowell BMP 제품 안에 들어있는 TCP/HA 이식재를 우선 다른 용기에 담아두고, 제품 안에 용량에 맞는 생리식염수를 섞은 후(0.5 g vial에 0.4 mL) 다시 TCP/HA 이식재와 혼합해 사용하게 된다. O-BMP는 rhBMP-2의 운반체로 흡수성 콜라겐이 사용되는데, 제조사 지시사항에 따라 1.5 mg/mL 농도의 rhBMP-2 vial에 주사용수 0.7 mL를 담아서 녹인 후, 콜라겐 스펀지(5×1.25×0.5 cm)에 골교로 적셔 사용하였다. 이식받은 부위는 모두 흡수성 콜라겐 차폐막인 Ossguide<sup>®</sup> (SK bioland Co. Cheonan, Korea)를 이용하여 완전히 피개한 후 동일한 봉합사(Mersilk 3-0, Ethicon sutures)로 봉합하였다.(Fig. 1)

### 4. 치유과정 평가

골 이식 4주 후에 한 마리의 비글견을 희생시키고 8주 후에 나머지 한마리의 비글견을 희생시켜 조직 시편을 채취하여 임상 및 조직학적 결과를 분석하였다. 주변의 기존 골과의 연속성을 평가하기 위하여 조직 시편을 빼이식 전 형성한 발치창의 크기(길이 13 mm, 폭 8 mm 깊이 11 mm)보다 약간 더 크게 협측에서 접근하여 톱



**Fig. 1.** Experimental scene. After removal of the first and third premolar teeth of one side, a rectangular bone defect of the same size and shape was artificially formed. O-BMP (Osstem Implant Co. Busan, Korea) and Cowell BMP (Cowellmed Co. Busan, Korea) were transplanted to the defect and the resorbable collagen membrane was implanted and then sutured.

로 잘라 주변의 건전골도 함께 채취하였다. 시편들을 10% Fomic Acid (Georgiachem Inc. Georgia, USA)로 3주간 탈회하고 조직절편제작기(Shadon Citadel 2000, Thermo Fisher Scientific Inc. Kalamazoo, USA)를 이용한 조직처리 과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다(Shadon Histocentre 3, Thermo Fisher Scientific Inc. Kalamazoo, USA). 그 후 조직절단기(Shadon Finesse 325, Thermo Fisher Scientific Inc. Kalamazoo, USA)로 모든 시편을 5 µm단위 두께로 연속적으로 분할하여 hematoxylin & eosin (H&E) Staining 염색을 진행하였다. 신생골 형성에 대한 조직형태 계측학적 분석을 위하여, 컴퓨터와 CCD 카메라(SPOT Insight 2Mp scientific CCD digital camera system, Diagnostic Instruments Inc., Sterling Heights, USA), adaptor (U-CMA3, Olympus Co., Tokyo, Japan)가 연결된 광학현미경(BX51, Olympus Co., Tokyo, Japan)으로 영상을 획득하였다. 영상의 분석은 SPOT Software V4.0 (Diagnostic Instruments Inc., USA)를 통해 진행하였다.

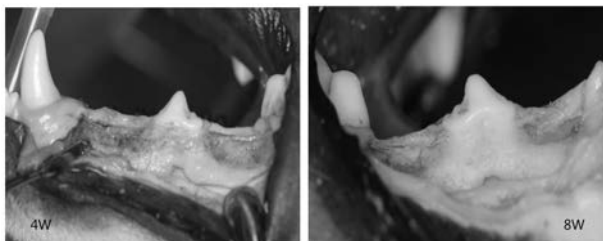
## 결 과

### 1. 임상적 평가

4주 후 관찰시에는 기존골과 신생골 사이의 경계가 선명하게 보였고, 8주 후에는 좀더 흐릿하게 관찰되었다. 골 이식재의 높이나 폭경은 4주와 8주 모두 이식 시의 높이와 폭경을 잘 유지하고 있었다.(Fig. 2)

### 2. 조직학적 평가

골 이식 4주 후, O-BMP group의 경우 골이식 부위에서 골유도 및 골전도성 치유가 발생하면서 약 43.87%의 신생골이 형성되는 것이 관찰되었다. Cowell BMP 그룹의 경우 HA/TCP 주변으로 골유도성 치유가 이루어지면서 약 40.72% 정도의 신생골 형성이 관찰되었다. 골 이식 8주 후, 모두 더 증가된 신생골 형성을 보이며, 주변 골과의 연속성도 증가하였다. 4주와 8주때 모두 O-BMP가 Cowell BMP에 비해 더 많은 골 형성을 보였지만 실험 시편의 수



**Fig. 2.** Gross appearance of the experimental site after 4 and 8 weeks. After 4 weeks, the boundary between the existing bone and the new bone was clearly seen, and after 8 weeks, it was more blurred. The height and width of the bone grafts were well maintained at 4 and 8 weeks.

가 적어서 통계적 검증은 시행할 수 없었다(Table 1).(Fig. 3)

## 고 찰

구강 및 두개악안면 영역의 골 결손부의 재건에는 다양한 이식재가 사용될 수 있다. 결손부의 크기가 광범위하거나 상태가 불량한 경우 자연치유를 도모할 수 없다면 인위적으로 골 이식을 시행해야 하며, 자가골, 동종골, 이종골, 합성골 등 다양한 골이식재가 사용될 수 있다. 결손부의 잔존 벽수에 따라 1-wall defect의 경우에는 자가골을 사용하는 것이 유리하며, 잔존 벽수가 많다면 자가골 외의 골이식재로도 충분히 골형성을 유도할 수 있다. 그 외에도 결손부의 혈류 공급이 골이식재 선택에도 영향을 미칠 수 있다. 건전 발치와와 같이 혈류 공급이 충분하고 크기가 작다면 별도의 골이식 없이도 골 형성이 일어날 수 있다<sup>8)</sup>. 하지만, 혈류 공급이 원활하지 않은 경우에는 자가골을 사용하거나 적절한 골이식재와 함께 콜라겐이나 골형성 단백질 등을 병용하면서 치유를 촉진시킬 수 있다<sup>9-11)</sup>.

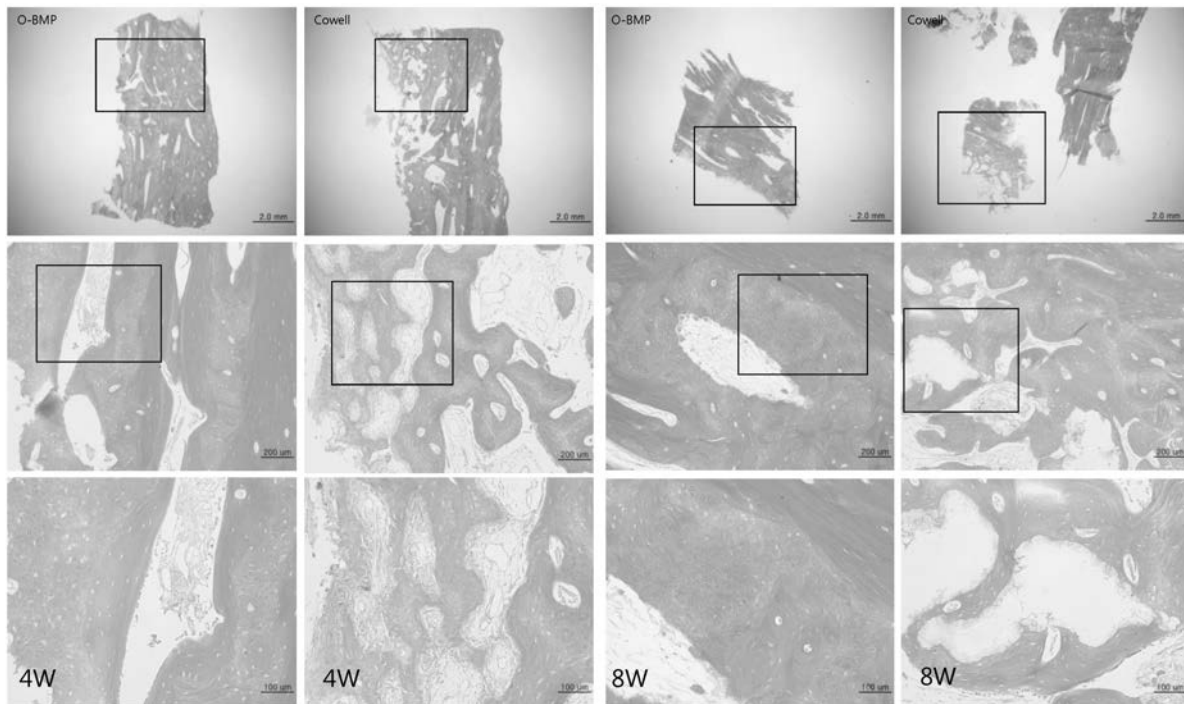
BMP는 골 형성을 유도하는 단백질들을 모두 칭하는 용어이다. BMP는 신체 전반에 걸쳐서 세포를 지휘하며 형태를 구성하는 데 핵심적인 신호로 작용한다고 여겨지고 있다<sup>12)</sup>. BMP는 세포 표면에 있는 bone morphogenetic protein receptors (BMPRs)라 불리는 특정한 수용체와 상호작용한다. BMPRs를 통한 신호전달은 SMAD 계열의 단백질을 움직이게 하고, 이러한 일련의 흐름에 의해 심장, 중추신경계, 관절, 출생 이후 뼈 발달이 조절된다. BMP의 종류로는 BMP 1은 금속단백질 분해효소 이고, BMP 2~7까지 6종류는 변형 성장인자 β-superfamily에 속한다<sup>13)</sup>. 이 BMP들 중 인간 재조합형 BMP (recombinant human BMP) 2와 6 (rhBMP-2, rhBMP-6)이 FDA의 승인을 받아 임상에서 사용될 수 있다. 그중 rhBMP-2는 다른 BMP들보다 골 형성을 더 많이 일으켜서, 널리 사용되고 있다. rhBMP-2는 BMPR1A와 상호작용하는데, 그에 따라 미분화 간엽세포로부터 골모세포의 분화를 촉진하고, 골 matrix의 생합성에 기여하게 되어 신생골 형성을 촉진하게 된다<sup>14)</sup>.

Yasko AW et al.의 연구에서 구아닌딘 추출된 염산 탈회된 쥐의 골 매트릭스를 운반체로 해서, rhBMP-2를 함유하지 않은 매트릭스와 1.4 mg을 함유한 매트릭스, 11 mg을 함유한 매트릭스 간의 골유도능 정도를 비교했는데, 1.4 mg을 함유한 매트릭스는 함유하

**Table 1.** New bone formation at mandible (%)

	4 weeks	8 weeks
O-BMP	43.87	59.56
Cowell	40.72	56.35
O-BMP SD	2.88	20.06
Cowell SD	13.96	16.89

SD: standard deviation.



**Fig. 3.** Histologic findings at 4 and 8 weeks after bone grafting. In the O-BMP group, about 43.87% of new bone formation was observed with osteoinductive and osteoconductive healing at the bone graft site. In the case of Cowell BMP group, about 40.72% of new bone formation was observed with osteoclastic healing around HA/TCP.

지 않은 군과 유의한 차이가 없었던 반면, 11 mg을 함유한 군은 함유하지 않은 군에 비해 통계적으로 유의성 있게 높은 골유도능을 보였다<sup>15)</sup>. 한편 rhBMP-2는 다른 BMP들처럼 추출해내기가 매우 어렵다. 인간이나 동물들에서 채취한 BMP는 그 양이 불충분해서 임상적 적용이 어려웠다. 그러나 최근의 유전공학의 발달로 mammalian cell이나 Escherichia coli (E. coli)를 이용한 유전자 재조합을 통해 BMP를 대량 생산하는 것이 가능해졌다<sup>16-20)</sup>. E coli 유전자 재조합으로 얻어진 rhBMP-2의 경우 골형성능이 있고 골모세포를 인간의 간엽세포로 분화시키는 능력이 있으며 비교적 저비용으로 대량생산이 가능하다. Mammalian cell중 rhBMP-2를 얻는데 사용되는 대표적인 세포인 Chinese Hamster Ovary (CHO) cells로부터 얻어진 rhBMP-2의 경우, 대체로 그 임상적 효능은 E coli로부터 얻어진 rhBMP-2보다 우수하지만, 생산되는 양이 적어, 비용이 높다는 단점이 있다. Mammalian cell인 Chinese Hamster Ovary (CHO) cell로부터 유래된 rhBMP-2의 상품들로는 Medtronic사의 BMP Infuse 및 Cellumed사의 Rafugen BMP-2 등이 있고, E coli로부터 유래된 rhBMP-2의 상품들로는 Ortho-Heal사의 BCP/BMP-2, CowellMedi 사의 Cowell BMP 및 Daewoong 사의 NOVOSIS BMP가 있다. 그러나 rhBMP-2를 단독으로 사용하는 것에 어려움이 있는데, 자연상태에서 매우 흡수성이 높아서, 단독으로 사용 시 의미 있는 골유도능을 발휘하기 이전에 금방 흡수되어버리기 때문이다. 따라서 BMP의 효

능을 제대로 내기 위한 운반시스템이 필요한데,  $\beta$ -TCP나 hydroxyapatite, TCP와 같은 인산칼슘류나, polycaprolactone과 같은 폴리머류, 흡수성 콜라겐 스펀지, 탈회된 골 매트릭스, 탈유기질 결정화 된 소뼈(Bio-Oss), 탈회상아질기질(demineralized dentin matrix) 등이 이용되었다. 그러나 이러한 흡수성 재료들 또한 금방 흡수되어버려서, 생체실험에서는 제한된 효능을 보였다<sup>21-24)</sup>.

본 연구에 사용된 O-BMP와 cowell-BMP는 모두 E coli로부터 유래된 rhBMP-2가 함유된 제품인데, O-BMP의 경우 rhBMP-2 용액과 콜라겐 스펀지로 구성된다. rhBMP-2 용액의 농도는 1.5 mg/mL이고, 콜라겐 스펀지에 이 용액을 0.7 mL 적서 사용한다. Cowell-BMP의 경우 가루형태의 TCP/HA 이식재와 분말형태의 rhBMP-2가 동결건조 되어있는 상태이고, 분말의 직경은 0.41~1.0 mm이다. 이 분말에 멸균생리식염수를 주사하면 동결건조된 rhBMP-2의 단백질구조가 활성화되며 환자에게 적용할 수 있게 되는 구조이다. O-BMP group의 경우 collagen이 함유되어 있어 골유도 및 골전도성 치유가 잘 일어나는 것으로 보이며 그에 따라서 신생골 형성 양도 높은 경향을 보였다. Ronald E. Jung 등의 연구에서는 토끼를 이용하여 rhBMP-2를 함유한 골이식재의 8주 후의 신생골 형성 비율을 평가했는데, 10  $\mu$ m/mL의 rhBMP-2를 함유한 그룹의 경우 26.32 $\pm$ 8.56%, 30  $\mu$ m/mL 함유한 그룹의 경우 30.15 $\pm$ 7.63%의 신생골 형성을 보였다<sup>25)</sup>. 한편 본 연구에서는 8주 후 O-BMP 59.56%나 Cowell BMP의 56.35%로 매우 높은

신생골 형성을 보였고 O-BMP group이 cowell-BMP group에 비하여 신생골 형성량이 약간 많은 양상을 보였다. 본 연구에서는 모든 결손부가 건전한 골벽과 우수한 혈류 공급을 가지고 있는 형태로 한정되었기 때문에 골치유가 매우 우수하게 이루어진 것으로 보이며 실험동물 수가 2마리에 불과하여 조직학적 시편이 많지 않아 통계학적 검증이 불가능했으며, 단순히 조직학적 치유과정만을 기술한 한계점이 존재한다. 따라서 앞으로의 연구에서는 다양한 형태의 골벽과 혈류 공급 수준의 차이 등을 고려하여 좀 더 많은 표본의 수로 다양한 실험을 통해 통계학적 검증이 가능한 추가적 연구가 필요하다고 사료된다.

## 결 론

rhBMP-2를 함유한 O-BMP와 Cowell BMP를 발치창 결손부에 이식하여 양호한 골형성을 보였으며 발치창 보존술과 골유도재생술 등에 유용하게 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

## REFERENCES

- Cortellini P, Tonetti MS. Clinical concepts for regenerative therapy in intrabony defects. *J Periodontol* 2000;68:282-307.
- Harsha BC, Turvey TA, Powers SK. Use of Autogenous Cranial Bone Grafts in Maxillofacial Surgery: A Preliminary Report. *J Oral Maxillofac Surg* 1966;44:11-15.
- Kim YK. Bone graft using two types of scaffolds and recombinant human bone morphogenetic protein-2: Case series study. *ORAL BIOLOGY RESEARCH* 2014;38:127-134.
- Cheng H, Jiang W, Phillips FM, Haydon RC, Peng Y, Zhou L, et al. Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am* 2003;85:1544-1552.
- Bessho K, Tagawa T, Murata M. Comparison of bone matrix-derived bone morphogenetic proteins from various animals. *J Oral Maxillofac Surg* 1992;50:496-501.
- Bragdon B, Moseychuk O, Saldanha S, King D, Julian J, Nohe A. Bone morphogenetic proteins: a critical review. *Cell Signal* 2011;23:609-620.
- Davies SD, Ochs MW. Bone morphogenetic proteins in cranio-maxillofacial surgery. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2010;22:17-31.
- Araújo, Mauricio, Linder, Elena, Wennström, Jan; Lindhe, Jan. The Influence of Bio-Oss Collagen on Healing of an Extraction Socket: An Experimental Study in the Dog. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28:123-135.
- Bozidar MB, Brkovic, Hari S, Prasad, Michael D, Rohrer, George Konandreas et al. Beta-tricalcium phosphate/type I collagen cones with or without a barrier membrane in human extraction socket healing: clinical, histologic, histomorphometric, and immunohistochemical evaluation. *Clin Oral Investig* 2012;16:581-590.
- Kim YK, Yun PY, Lee HJ, Ahn JY, Kim SG. Ridge Preservation of the Molar Extraction Socket Using Collagen Sponge and Xenogeneic Bone Grafts. *Implant Dent* 2011;20:267-272.
- Cardaropoli D, Roffredo A, Cardaropoli G. Socket Preservation Using Bovine Bone Mineral and Collagen Membrane: A Randomized Controlled Clinical Trial with Histologic Analysis. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2012;32:420-430.
- Bleuming SA, He XC, Kodach LL, Hardwick JC, Koopman FA, Ten Kate FJ et al. Bone morphogenetic protein signaling suppresses tumorigenesis at gastric epithelial transition zones in mice. *Cancer Res* 2007;67:8149-8155.
- Even J, Eskander M, Kang J. Bone morphogenetic protein in spine surgery: current and future uses. *J Am Academy of Orthopaedic Surg* 2012;20:547-552.
- Nickel J, Dreyer MK, Kirsch T, Sebald W. The crystal structure of the BMP-2:BMPIA complex and the generation of BMP-2 antagonists. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83A Suppl 1: S7-14.
- Yasko AW, Wang EA. The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP-2). A radiographic, histological, and biomechanical study in rats. *J Bone and Joint Surg Am* 1992;74:659-670.
- Kim YK, Um IW, An HJ, Kim KW, Hong KS, Murata M. Original Effects of Demineralized Dentin Matrix Used as an rhBMP-2 Carrier for Bone Regeneration. *J Hard Tissue Biology* 2014;23:415-422.
- Bessho K, Konishi Y, Kaihara S, Fujimura K, Okubo Y, Iizuka T. Bone induction by Escherichia coli-derived recombinant human bone morphogenetic protein-2 compared with Chinese hamster ovary cell-derived recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Brit J Oral Maxillofacial Surg* 2000;38:645-649.
- Kim IS, Lee EN, Cho TH, Song YM, Hwang SJ, Oh JH et al. Promising Efficacy of Escherichia coli Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 in Collagen Sponge for Ectopic and Orthotopic Bone Formation and Comparison with Mammalian Cell Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2. *Tissue Eng Part A* 2011;17:337-348.
- Huh JB, Lee HJ, PhD, Jang JW, Kim MJ, Yun PY et al. Randomized clinical trial on the efficacy of Escherichia coli-derived rhBMP-2 with  $\beta$ -TCP/HA in extraction socket. *J Adv Prosthodont* 2011;3:161-165.
- Jung SY, Ko YJ, Jang HS, Kang SW, Park JH. The Effect of Carrier for BMP-2 Delivery on Histological Aspects of Tissue-Engineered Bone. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 2013;10:341-346.
- Kim YK, Kwon KH, Lee ES, Kim CH, Kim MY et al. Experimental Study on Human Demineralized Dentin Matrix as rhBMP-2 Carrier In Vivo. *J Dent App* 2015;2:269-273.
- Kim YK, Um IW, An HJ, Kim KW, Hong KS, Murata M. Original Effects of Demineralized Dentin Matrix Used as an rhBMP-2 Carrier for Bone Regeneration. *J Hard Tissue Biology* 2014;23:415-422.
- Um IW, Hwang SH, Kim YK, Kim MY, Jun SH, Ryu JJ et al. Demineralized dentin matrix combined with recombinant human bone morphogenetic protein-2 in rabbit calvarial defects. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg* 2016;42:90-98.

24. Yun PY, Kim YK, Jeong KI, Park JC, Choi YJ. Influence of bone morphogenetic protein and proportion of hydroxyapatite on new bone formation in biphasic calcium phosphate graft: Two pilot studies in animal bony defect model. *J Craniomaxillofac Surg* 2014;42:1909-1917.
25. Ronald E, Jung FE, Weber DS, Thoma ME, David L, Cochran CHF. Bone morphogenetic protein-2 enhances bone formation when delivered by a synthetic matrix containing hydroxyapatite/tricalciumphosphate. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19:188-195.