

성견의 3급 이개부 병변에서 성형성 합성 펩타이드 젤의 치주재생 능력에 관한 실험적 연구

김정범¹, 박윤정², 이상철³, 김태일¹, 설양조¹, 이용무¹, 구영¹, 류인철¹, 한수부¹, 정종평^{1,3*}

1. 서울대학교 치의학전문대학원 치주과학교실
2. 서울대학교 치의학전문대학원 두개악안면재건학교실
3. ㈜ 나이벡

Experimental study on the periodontal regenerative capacity of moldable synthetic peptide domain gel in degree III furcation defect of beagles

Jeong-Beom Kim¹, Yoon-Jeong Park², Sang-Cheol Lee³, Tae-Il Kim¹, Yang-Jo Seol¹, Yong-Moo Lee¹, Young Gu¹, In-Chul Rhyu¹, Soo-Boo Han¹, Chong-Pyoung Chung^{1,3*}

1. Department of Periodontology, School of Dentistry, Seoul National University
2. Department of Head and Neck Reconstruction, School of Dentistry, Seoul National University
3. NIBEC Corp.

ABSTRACT

Purpose: Osteopontin is one of the major non-collagenous protein of hard tissue. Use of peptide domain of biologically active protein has some advantages. The objective of this experimental study is evaluation of periodontal regenerative potency of synthetic peptide gel which containing collagen binding domain of osteopontin in the degree III periodontal defect of beagle dogs.

Material and Methods: Experimental degree III furcation defect was made in the mandibular third and fourth premolar of beagles. Regenerative material was applied during flap operation. 8 weeks after regenerative surgery, all animals were sacrificed and histomorphometric measurement was performed to calculate the linear percentage of the new cementum formation and the volume percentage of new bone formation.

Result: The linear percent of new cementum formation was 41.6% at control group and 67.1% at test group and there was statistically significant difference. The volume percent of new bone formation was 52.1% at control group and 58.9% at test group.

Conclusion: As the results of present experiment, synthetic peptide gel containing collagen binding domain of osteopontin significantly increase new bone and cementum formation in the degree III furcation defect of canine mandible.

(*J Korean Acad Periodontol* 2008;38:621-628)

KEY WORDS: Collagen binding domain; Peptide domain; Regeneration; Osteopontin.

서론

치주염은 생체피막 내의 세균에 의해 야기되는 감염성 질환이다¹⁾. 그 결과 치은에 염증이 발생하고 치주낭이 형성되

면서 치조골이 소실되고, 결국 치아 상실이 일어난다. 만성 치주염은 치주염 중 가장 흔한 유형으로 치태와 치석이 침착되어 발생한다²⁾.

만성 치주염의 주된 치료법은 원인인자를 제거하기 위해 시행되는 치석제거술과 치근활택술 그리고 치주판막술이다. 이러한 치료의 결과 치주조직의 재생이 아닌 회복이 일어난다³⁾. 치조골, 치주인대와 치은 결합조직 그리고 상피의 완전한 회복을 의미하는 치주조직의 재생을 이루기 위해 골

Correspondence: Dr. Chong-Pyoung Chung
Department of Periodontology, School of Dentistry, Seoul National University, Yeongeon-dong, Jongno-gu, Seoul, Korea.
E-mail: ccpperio@snu.ac.kr, Tel: 82-2-2072-2641, Fax: 82-2-958-9387
*이 연구는 지식경제부 부품소재개발연구사업의 지원으로 수행되었음.
Received: Sep. 8, 2008; Accepted: Oct. 7, 2008

이식술, 조직 유도재생술과 법랑기질단백이나 성장인자 등을 사용하는 여러 술식들이 소개되어 있다.

골 이식재는 자가골, 동종골, 이종골과 합성골로 분류되며⁴⁾, 이러한 재료를 이용하여 치주결손부에 골 이식술을 시행하면 종종 재생이 일어나기도 한다. 하지만 대체로 긴 상피접합이 치근면과 치은 결합조직 혹은 치조골 사이에 개재되는 형태의 치유가 일어나며, 이식재가 연조직에 의해 둘러싸이는 경우가 흔하다⁵⁾.

치주조직의 재생을 위해 치주조직의 치유에 관한 많은 연구가 이뤄졌다. 치주조직의 치유에 참여하는 세포는 치주인대, 치조골, 치은 결합조직과 치은 상피에서 유래한다⁶⁾. Melcher의 치주조직 치유에 관한 견해⁶⁾로부터 조직 유도재생술과 관련된 많은 연구가 시행되었으며, 이 술식은 임상적, 조직학적으로 치주조직의 재생을 보여주었다⁷⁻¹⁰⁾. 골내 결손부와 하악 2급 치근이개부 병변에서 조직 유도재생술의 임상적 장점이 있지만, 조직 유도재생술은 연구 결과들 사이에 많은 이질성(heterogeneity)을 보이며 술자의 수기에 따라 결과가 판이하다는 한계가 있다¹¹⁾.

백악질 형성이 치주조직의 재생에 핵심적인 요소라는 사실과, Hertwig 상피근초는 법랑기질단백을 분비하여 백악질형성을 야기할 수 있다는 가설에 기초하여^{12,13)} 법랑기질단백을 이용하여 치주재생을 이루기 위한 연구가 1990년대 후반부터 시작되었다. Emdogain[®]은 법랑기질단백을 포함하는 상업적으로 사용 가능한 제품으로 많은 연구 결과에서 임상적, 조직학적 재생을 보여주었다.

오스테오폰틴(Osteopontin)은 경조직의 주요 비교원성 단백질로¹⁶⁻¹⁸⁾, 한계막(lamina limitans)이나 백악선(cemental line)과 같은 경조직-기질 계면에 고농도로 존재한다¹⁹⁻²³⁾. 이 등²⁴⁾은 오스테오폰틴은 세포외기질, 특히 1형 교원질과 상호작용을 하는 결합부위가 있으며, 이 결합부위 펩타이드는 시험관내에서 골아세포의 활성을 증가시키며 생체 내에서 골 형성을 증가시킨다고 보고하였다. 우리 실험실에서는 전체 단백질이 아닌 결합부위 펩타이드를 이용하여 여러 시험관과 생체실험을 시행하였으며, 특히 골형성단백(Bone morphogenetic protein; BMPs)의 인테그린 결합부를 이용한 결과를 보고하였다^{25,26)}.

성장인자 분자를 생체에 의학적으로 적용하는 것은 여러 한계점을 가지고 있다. 우선 단백질은 원하지 않는 면역반응을 유발하거나 감염을 일으킬 수 있다. 둘째로 단백질은 단백질효소에 의해 분해될 수 있어 지속적인 공급이 필요하다.

현실적으로 장기간 전체 단백질을 공급하는 것은 매우 힘들다. 셋째로 확률적으로 단백질의 일부분만이 세포 부착을 위한 적절한 방향을 나타내고 있다²⁷⁾.

이에 반하여 작은 펩타이드는 소독이나 열처리, 수소이온 농도 변화에 보다 높은 안정성을 보이며 보관이 용이하고 특성화(characterization)를 하기 용이하고 비용적으로 유리하다. 또한 펩타이드는 성장인자 전체 단백질보다 적은 공간을 차지하므로 표면에 보다 높은 농도로 밀집시킬 수 있다. 이것은 펩타이드의 낮은 세포 부착능력을 상쇄할 수 있다. 더욱이 세포외기질 단백질은 보통 많은 다양한 세포 인식부위를 가지고 있는 반면에 펩타이드는 단지 한 개의 부착부위를 가지고 있다. 따라서 펩타이드는 한 개의 특정한 유형의 세포부착 수용체에 선택적으로 맞춰질 수 있으며 대량합성 및 부가적인 화학수식이 용이하다²⁷⁾.

오스테오폰틴은 경조직에서는 계면부착단백으로 간주되며, 결합부위 펩타이드를 사용하는 것은 많은 장점을 가지고 있으므로, 이번 연구는 노출된 치근면에 오스테오폰틴의 교원질 결합부위 펩타이드를 적용하면 신생 백악질과 치조골이 생길 것이라는 가설 하에 진행되었다.

이번 실험적 연구의 목적은 비글견의 하악 3급 이개부 병변에 합성 펩타이드를 주입에 용이하도록 젤로 만들어 이를 적용하여 치주조직의 재생도를 평가하는 것이다.

재료 및 방법

실험을 위해 10kg 내외의 건강한 치주조직과 바른 치열을 가지고 있는 수컷 비글 성견을 이용하였다. 실험동물의 선정과 관리, 수술 프로토콜 그리고 준비과정은 XX대학교 치과대학의 실험동물실 규정을 준수하여 이루어졌다.

2% xylazine hydrochloride(Rumpen, Bayer Korea, Seoul, Korea)와 ketamine hydrochloride(Ketalar, Yuhan, Seoul, Korea)를 이용하여 전신마취를 시행하였으며, 2% 리도카인으로 국소마취를 시행하였다. 하악 제 3, 4소구치에 열구내 절개를 가하였으며 제 2소구치의 근심부와 제 1대구치의 원심부에 수직 이완절개를 가하였다. 전측 점막골막 판막을 거상하여 치근면과 치조골을 노출하였으며 제 3, 4소구치에 3급 이개부 골 결손부를 형성하였다. 제 3소구치는 협측에 6×6 mm의, 제 4소구치는 협측에 8×8 mm의 정사각형 모양의 치조골 결손을 형성하였으며 치근간 치조골

과 치근 백악질을 제거하여 협측에서 설측 방향으로 “열쇄 구멍” 모양의 결손부를 형성하였다²⁹⁾. 이개부 골 결손의 가장 첨단부의 치근면에 구를 부여하였다.

결손형성을 완료한 후 실리콘 인상재(ExamixFine, injection type, GC, Tokyo, Japan)를 골 결손부에 주입한 후 판막을 원래 위치로 재 위치시킨 후 봉합하였다. 수술 직후 항생제(Cefazolin 200 mg)와 소염진통제(Ketoprofen 20 mg)를 근주하였다. 유동식을 공급하여 치태가 축적될 수 있게 하였다. 결손부 형성 수술을 시행한지 3주 후 판막을 거상하지 않고 인상재를 제거하고 치근활택술을 시행하였다.

인상재를 제거하고 5주 경과된 후 재생수술을 시행하였다. 결손부 형성 수술시와 동일한 판막 설계로 전층 점막골막 판막을 거상하여 치근면과 치조골, 골 결손부를 노출시킨 후 치석제거술과 치근활택술을 시행하고 육아조직을 철저히 제거하였다. 하악의 편측에 합성펩타이드 함유 주입형 젤을 적용하였으며 반대측에는 실험용 젤에서 활성 펩타이드만 제거한 대조용 젤(NIBEC, Seoul, Korea)을 주입하였다. 골막 이완절개를 가하여 판막이 장력이 없이 수동적으로 결손부와 치근면을 피개할 수 있도록 한 후 봉합하였다. 수술 직후 항생제(Cefazolin 200 mg)와 소염진통제(Ketoprofen 20 mg)를 근주하였다.

재생수술을 시행하고 8주 후 모든 개체를 희생하였으며, 희생 직후 양측 경동맥을 통해 10% 중성 완충 포르말린을 주입하였다. 절편형성은 Donath와 Breuner가 제시한 방법으로 형성하였다³⁰⁾. 하악골 덩어리를 절제하여 10% 중성 완충 포르말린 용액에 고정한 후 일련의 에탄올 용액을 이용하여 탈수하였다. 절편형성을 위해 매몰제 매질(Technovit 7200, Exakt, Hamburg, Germany)을 이용하였다. 관상 방향(coronal)으로 절편을 형성하고 30 μm까지 연마(Exakt, Exact cutting & grinding system, Hamburg, Germany)한 후 톨루이딘 블루로 염색하였다.

광학 현미경(Olympus BX50, Olympus Optical, Osaka,

Japan)을 이용하여 조직계측분석을 시행하였으며, 각 절편은 디지털 카메라(Olympus DP71, Olympus Optical, Osaka, Japan)를 이용하여 조직사진을 촬영하였다. 컴퓨터-보조의 조직계측분석(TDI Scope Eye, Seoul, Korea)을 통해 신생골의 부피비 생성률과 신생 백악질의 길이비 생성률을 분석하였으며, 이 때 결손부 형성수술시 형성한 구를 측정의 기준점으로 참고하였다.

통계분석은 SPSS 12.0K를 이용하여 시행하였으며, 자료는 평균±표준편차로 표기하였다. 대응표본 t검정을 통해 p값이 0.05 미만인 경우 통계적인 유의성을 부여하였다.

결과

한 개체의 양측 제 4소구치에서 재생수술 전 치주농양이 형성되었으며, 이 부위는 희생 직전에 심한 염증반응을 나타냈다. 이 두 치아는 조직학적 계측에서 제외하였다. 또한 한 개체에서 한 개의 제 3소구치의 절편 생성과정에서 절편 형성 방향이 잘못되어 제외하였다.

대조군에 비해 실험군에서 보다 많은 양의 신생골과 백악질이 형성되었다(Fig. 1, 4). 특히 실험군에서 현저하게 많은 양의 신생 백악질이 형성되었다. 치근 표면에 백악아세포와 흡수와(resorption lacuna)도 관찰된다(Fig. 2, 3). 하지만 대조군에서는 백악질이 제한적으로 생성되었으며, 신생골이 생긴 부위임에도 불구하고 백악질의 생성이 일어나지 않은 곳이 많이 관찰되었다(Fig. 5, 6).

조직계측학적 분석 결과 신생 백악질의 선상 생성비율은 대조군에서 41.6%였고 실험군에서는 67.1%로 통계적으로 유의하게 많은 양의 신생 백악질 형성이 나타났다(p<0.05)(Table 1). 신생골의 부피비 생성비율은 대조군에서 52.1%였으며, 실험군에서는 58.9%였다(Table 1).

Table 1. Mean values of linear proportion (%) of new cementum and volume proportion of new bone formation (%) in the healed furcation defects of Test and Control (Mean ± SD)

	Test	Control
New cementum, %	67.1 ± 8.5	41.6 ± 25.3*
New bone, %	58.9 ± 7.0	52.1 ± 16.1

*p<0.05, as compared with Test and Control.



Figure 1



Figure 2

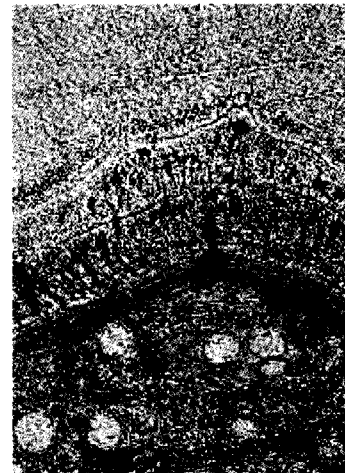


Figure 3

Figures 1-3. Test group

A: (Left) Defect area was filled with new bone and cementum. Larger amount of new bone and cementum was observed than control group (Figs 4-6) (Original magnification, X20)

B: (Middle) Higher magnification of red box of fig 1. Resorption bays (arrowhead) are observed on the dentin surface. Some cells (arrow) were also observed in the cementum. (Original magnification, X 400)

C: (Right) Higher magnification of blue box of fig 1. Pattern of new cementum formation is similar with Fig. 2 (arrow). (Original magnification, X 400)



Figure 4



Figure 5



Figure 6

Figures 4-6. Control group

A: (Left) Defect area was filled with lesser amount of bone and cementum than test group(Fig. 1). Especially limited amount of new cementum was remarkable. (Original magnification, X 20)

B: (Middle) Higher magnification of boxed area of Fig. 4. New cementum formation was very limited. (arrow) (Original magnification, X 100)

C: (Right) Higher magnification of blue box of Fig. 4. Limited amount of new bone formation can be observed. New cementum area is scarce (arrow). (Original magnification, X 100)

고찰

이번 연구에서 오스테오폰틴의 교원질 결합부위를 포함

하는 합성 펩타이드 젤은 성견의 하악 3급 치근이개부 병변에서 신생골과 신생 백악질 형성에 영향을 미치는 것으로 나타났다. Araujo 등은 개의 하악에 재생 시술시에 판막 조

작의 편의를 위해 제 2소구치와 제 4소구치를 발치하는 실험 모형을 제시하였다²⁹⁾. 그러나 이번 연구에는 이런 실험 설계 없이도 치은 퇴축으로 인한 이개부의 노출이 일어나지 않았다.

치주조직의 재생을 위해 여러 가지 치료법이 소개되어 있으며, 가장 단순히는 치석제거술 및 치근활택술과 치주판막 수술로도 재생이 이뤄질 수 있으리라 생각하였으나, 많은 연구결과 대부분의 경우 긴 상피접합에 의한 치유가 일어나는 것으로 알려져⁶⁾ 보다 근본적인 치주재생을 이루기 위해 조직 유도재생술과 성장인자를 이용한 재생시술이 많이 소개되어 시행되어왔다. 성장인자 등의 생활성물질을 치주결손부에 사용한 결과에 대한 가장 최근의 견해는 다음과 같다; 1) 법랑기질단백은 골내 치주결손부에 단독으로 사용하거나 이식재와 동반 사용시 장기간 안정적인 결과를 나타낸다. 2) 법랑기질단백은 골이식재와 동반하여 사용시에 보다 우수한 임상적 결과를 나타낸다. 3) rhPDGF-BB(recombinant human platelet derived growth factor-BB)와 P-15는 치주 골결손부에 이식재와 동반하여 사용한 경우 이득이 있다. 4) PRP와 이식재의 동반사용에 대해서 상반된 결과가 보고된다. 5) 이개부 병변에서 생활성물질을 단독으로 혹은 골이식재나 조직 유도재생술과 동반하여 사용한 경우의 효과에 대한 근거는 제한적이다³¹⁾. 이번 연구에서는 그동안 치주재생을 위한 치료에는 많이 사용되지 않은 경조직의 주요한 비교원성단백인 오스테오펀틴을 이용하여, 이 물질의 치주재생효과를 알아보았다.

오스테오펀틴은 phosphophoryn, osteonectin과 dentin sialoprotein과 같은 인단백질의 하나이다^{31,32)}. 이 단백질은 경조직의 주요한 비교원성 단백질 중 하나로 상아질, 백악질과 골조직 그리고 경조직 계면의 부착부의 광화에 중요한 역할을 담당한다¹⁹⁻²³⁾. 오스테오펀틴은 Arg-Gly-Asp (RGD) 서열을 가지고 있으며, 이 부분은 세포부착서열로 인식된다²⁰⁻²²⁾. 또한 오스테오펀틴은 RGD 이외의 아미노산 서열을 가지고 있으며 이는 세포외기질, 특히 1형 교원질과의 부착부위로 인식된다. 이 부위는 수산화인회석의 결정 핵심형성과 기질 광화를 중재한다^{34,35)}. 이번 실험에서 우리는 고분자 젤에 고정된 오스테오펀틴의 교원질 부착부위를 포함하는 합성 펩타이드 젤을 사용하였다. 이 부위를 사용하는 이유는 위의 고찰을 바탕으로 한 1) 오스테오펀틴은 경조직의 계면에서 신생 경조직의 형성에 관여한다. 2) 오스테오펀틴은 세포나 세포외 기질과 작용하는 부위를 가지고 있으

며, 그 중 교원질 결합 부위가 신생 경조직의 형성에 중요한 역할을 한다. 3) 오스테오펀틴의 교원질 결합부위를 가지는 펩타이드는 오스테오펀틴의 경조직 계면에서 신생 경조직의 형성을 촉진한다는 가설에 바탕을 두었으며, 이 등²⁴⁾은 이 합성 펩타이드 젤을 이용하여 시험관내 실험에서 골아세포의 부착과 증식, 분화가 증가하는 것과 생체 내에서 골 형성을 증가시킨다는 것을 보여주었다²⁴⁾. 즉 오스테오펀틴이 기존골과 신생골의 계면에서 고농도로 존재하므로¹⁹⁻²³⁾ 신생골형성과정에서 중요한 역할을 미친다는 가설이 이 등의 실험²⁴⁾을 통해 증가되었음을 확인할 수 있었다. 이번 연구에서도 동일한 합성 펩타이드 젤은 치주 결손부에서 치근면의 계면에 경조직의 형성, 즉 신생 백악질의 형성도 증가시킨 사실을 관찰할 수 있었다. 이 결과를 종합하면 이번 합성 펩타이드 젤은 신생골 형성과 신생 백악질 형성을 촉진하여 치주재생에 기여할 수 있으리라 여겨진다.

성견의 하악 소구치에 형성한 3급 이개부 병변에 조직 유도재생술을 시행한 후 치유 경과를 관찰³⁵⁾한 결과 8주째에는 생성된 골은 교직골(woven bone)이었으며 백악질은 무세포성 내재성과 외재성 섬유성 백악질(acellular intrinsic and extrinsic fiber cementum)이었다. 20주 경과 시에 신생 치조골은 주로 층판골이었으며, 백악질은 주로 세포성 혼합섬유 백악질(cellular mixed fiber cementum)이었다. 이후 동일한 실험설계를 하여 법랑기질단백을 동반한 조직 유도재생술시 법랑기질단백은 무세포성 백악질을 형성하는데 기여하며, 이는 손상되지 않은 백악질과 치조골 인근에서 관찰되었다³⁷⁾. 이들은 이 백악질이 고유의 무세포성 백악질과는 다른 형태라고 하였다. 이번 연구에서 신생 백악질 내에 백악아세포로 추정되는 세포들이 관찰되었다(Figs 2, 3). 하지만, Araujo 등의 실험^{36,37)}과 비교하기 위해 보다 단기간과 장기간의 치유경과 관찰 실험이 필요하다고 사료된다.

또한 이번 실험의 설계상 결손부 형성수술 때 백악질을 제거한 이후 재생수술을 시행할 때 백악질을 제거하지 않아 관찰되는 백악질이 언제 형성된 것인지에 대해 논란의 여지가 있다. 따라서, 이번에 사용한 오스테오펀틴의 교원질 결합부위 펩타이드를 포함한 젤의 효과를 보다 명확하게 확인하기 위해서는 위의 부분들을 보완할 수 있는 실험 설계, 즉 재생수술시 백악질을 제거한 후 보다 명확한 표시점을 만들고 보다 장기간의 관찰기간을 두는 실험이 필요하다.

성견의 하악 소구치에 형성한 3급 이개부 병변에 오스테오펀틴의 교원질 결합부위를 포함하는 합성 펩타이드 젤을

이용하여 치주재생을 관찰한 결과 신생골과 백악질 형성이 증가됨을 관찰하였다. 이 결과로부터 오스테오폰틴의 교원질 결합부위를 포함한 펩타이드는 경조직 계면의 광화에 중요한 역할을 할 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 1976;33:235-249.
- Flemmig TF. Periodontitis *Ann Periodontol* 1999;4:32-37.
- Caton J, Zander H. Osseous repair of an intrabony pocket without new attachment of connective tissue. *J Clin Periodontol* 1976;3:54-58.
- Garrett S. Periodontal regeneration around natural teeth. *Ann Periodontol* 1996;1:621-666.
- Reynolds MA, Aichelmann-Reidy EA, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:227-265.
- Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976;47:256-260.
- Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennstrom J. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *J Clin Periodontol* 1986;13:604-616.
- Caffesse RG, Smith BA, Duff B et al. Class II furcations treated by guided tissue regeneration in humans: Case reports. *J Periodontol* 1990;61:510-514.
- Cortellini P, Pini Prato G, Baldi C, Clauser C. Guided tissue regeneration with different materials. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1990;10:137-151.
- Selvig KA, Kersten BG, Chamberlain AD, Wikesjo UM, Nilveus RE. Regenerative surgery of intrabony periodontal defects using ePTFE barrier membranes. Scanning electron microscopic evaluation of retrieved membranes versus clinical healing. *J Periodontol* 1992;63:974-978.
- Murphy KG, Cunsolley JC. Guided tissue regeneration for the treatment of periodontal intrabony and furcation defects. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:266-302.
- Hammarstrom L, Alatl I, Fong CD. Origins of cementum. *Oral Dis* 1996;2:63-69.
- Hammarstrom L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol* 1997;24:658-668.
- Giannobile WV, Somerman MJ. Growth and amelogenin-like factors in periodontal wound healing. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:193-204.
- Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. Enamel matrix derivative (Emdogain) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects (Review) *Cochrane Database Syst Rev* 2005;19:CD003875.
- Butler WT, Ritchie H. The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. *Int J Dev Biol* 1995;39:169-179.
- Gehron RP, Fedarko NS, Hefferan TE et al. Structure and molecular regulation of bone matrix proteins. *J Bone Miner Res* 1993;8:S483-S487.
- Butler WT. Dentin matrix proteins and dentinogenesis. *Connect Tissue Res* 1995;33:59-65.
- Veis A. Mineral matrix interactions in bone and dentin. *J Bone Miner Res* 1993;8:S493-S497.
- McKee MD, Nanci A. Osteopontin at mineralized tissue interfaces in bone, teeth, and osseointegrated implants: Ultrastructural distribution and implications for mineralized tissue formation, turnover, and repair. *Microsc Res Tech* 1996; 33:141-164.
- Bosshardt DD, Zalzal S, McKee MD, Nanci A. Developmental appearance and distribution of bone sialoprotein and osteopontin in human and rat cementum. *Anat Rec* 1998;250:13-33.
- Nanci A. Content and distribution of noncollagenous matrix proteins in bone and cementum: relationship to speed of formation and collagen packing density. *J Struct Biol* 1999;126:256-269.
- Kawaguchi H, Ogawa T, Kurihara H, Nanci A. Immunodetection of noncollagenous matrix proteins during periodontal tissue regeneration. *J Periodont Res* 2001;36: 205-213.
- Lee JY, Choo JE, Park HJ et al. Injectable gel with synthetic collagen binding peptide for enhanced osteogenesis in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;357:68-74.
- Jun-Beom Park, Jue-Yeon Lee, Ho-Nam Park et al. Osteopromotion with synthetic oligopeptide-coated bovine bone mineral in vivo. *J Periodontol* 2007;78:157-163.
- Yang-Jo Seol, Yoon-Jeong Park, Sang-Cheol Lee et al. Enhanced osteogenic promotion around dental implants

- with synthetic binding motif mimicking bone morphogenetic protein (BMP) - 2. *J Biomed Mater Res* 2006;77A: 599-607.
27. Hersel U, Dahmen C, Kessler H. RGD modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. *Biomaterials* 2003;24:4385-4415.
 28. Hamp SE, Nyman S, Lindhe J. Periodontal treatment of multirrooted teeth. Results after 5 years. *J Clin Periodontol* 1975;2:126-135.
 29. Lindhe J, Pontoriero R, Berglundh T, Araujo M. The effect of flap management and bioresorbable occlusive devices in GTR treatment of degree III furcation defects. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 1995;22:276-283.
 30. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982;11:318-326.
 31. Trombelli L, Farina R. Clinical outcomes with bioactive agents alone or in combination with grafting or guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 2008;35(s8):117-135.
 32. Liaw L, Skinner MP, Raines EW et al. The adhesive and migratory effects of osteopontin are mediated via distinct cell surface integrins: role of $\alpha v \beta 3$ in smooth muscle migration to osteopontin. *J Clin Invest* 1995;95:713-724.
 33. Oldberg A, Franzen A, Heinegard D. Cloning and sequence analysis of rat bone sialoprotein (osteopontin) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp cell binding sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:8819-8823.
 34. Tye CE, Hunter GK, Goldberg HA. Identification of the type I collagen-binding domain of bone sialoprotein and characterization of the mechanism of interaction. *J Biol Chem* 2005;280:13487-13492.
 35. Ito S, Saito T, Amano K. In vitro apatite induction by osteopontin: interfacial energy for hydroxyapatite nucleation on osteopontin. *J Biomed Mater Res A* 2004;69:11-16.
 36. Araujo M, Berglundh T, Lindhe J. The periodontal tissues in healed degree III furcation defects. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 1996;23:532-541.
 37. Araujo MG, Lindhe J. GTR treatment of degree III furcation defects following application of enamel matrix proteins. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 1998;25:524-530.

