

최종보고서

치과생체흡수성소재부품중소파트너지원
맞춤형 기업지원 인증패키지 지원(03-2019-001)

큐라틱 적용 유무에 따른 치주조직 및 구강 점막 상처의
치유효과 확인을 위한 전임상 유효성 평가

(생체재료개발센터 시험번호: *BMC_PS_19_01*)

최종 보고서

시험 제목

큐라틱 적용 유무에 따른 치주조직 및 구강 점막 상처의 치유효과
확인을 위한 전임상 유효성 평가

시험 의뢰자

기관명 : 티비엠(주)

주소 : 광주광역시 북구 첨단과기로 313, B-301

대표자 : 정재웅

시험 기관

기관명 : 전남대학교 생체재료개발센터

주소 : 광주광역시 북구 용봉로 77 전남대학교

시험 책임자

책임자 : 장광식

소속 : 전남대학교 생체재료개발센터

동물관리책임자

책임자 : 양의신

소속 : 전남대학교 생체재료개발센터

조직병리책임자

책임자 : 강소희

소속 : 전남대학교 생체재료개발센터

신뢰성보증업무

책임자 : 김세은

소속 : 전남대학교 생체재료개발센터

시험 담당자

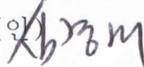
동물실험담당: 전석현, 생체재료개발센터

동물실험담당: 조현민, 생체재료개발센터

조직병리담당: 김용진, 생체재료개발센터

조직병리담당: 장은주, 생체재료개발센터

Title: 큐라틱 적용 유무에 따른 치주조직 및 구강 점막 상처의 치유효과 확인을 위한 전임상 유효성 평가

시 험 일 정	시험개시일		2020년 1월 2일
	동물입수일	14 일차	2020년 1월 2일
		3, 7 일차	2020년 1월 14일
	이식일	14 일차	2020년 1월 7일
		3, 7 일차	2020년 1월 21일
	부검일	14 일차	2020년 1월 21일
		3 일차	2020년 1월 24일
		7 일차	2020년 1월 28일
	최종보고서 제출일		2020년 5월 15일
승 인	시험책임자: 장 광 식 (인)		2020년 05월 14일
	운영책임자: 심 경 미 (인)		2020년 5월 15일
확 인	신뢰성보증 업무책임자: 김 세 은 (인)		2020년 5월 15일

최종 보고서 승인

시험 제목

큐라틱 적용 유무에 따른 치주조직 및 구강 점막 상처의 치유효과
확인을 위한 전임상 유효성 평가

동물 복지

본 실험은 동물보호법(제정 1991년 5월 31일 법률 제4397호, 일부개정 2018년 3월 20일
법률 제15502호)에 근거하여 전남대학교 동물실험윤리위원회에 의해 승인되었다.
(승인번호 : CNU IACUC-YB-2019-99)

시험의뢰자

기관명 : 티비엠㈜
주소 : 광주광역시 북구 첨단과기로 313, B-301
대표자 : 정재웅

시험기관

기관명 : 전남대학교 생체재료개발센터
주소 : 광주광역시 북구 용봉로 77, 전남대학교 생체재료개발센터

본 시험의 최종보고서를 확인합니다.

확인
(서명)

(YYYY-MM-DD)

정재웅
시험의뢰자
티비엠㈜

확인일자

시 험 결 과 요 약

본 시험은 티비엠(주)에서 제작된 구강 내 창상의 오염을 방지하고 보호해주는 구강 전용 점착성투명창상피복제인 큐라틱(Curatick)의 창상 치유 촉진 효과를 토끼의 구강점막에서 확인하는데 있음.

이를 위해 토끼 경구개에 직경 4 mm의 화학적 화상(Burn model) 및 물리적 절제창상(Excision model)을 유발한 후, 큐라틱 적용 여부에 따른 창상 치유 양상을 비교하였음. 수술 후 3일간 큐라틱을 적용하였으며(24 시간 간격으로 교체), 3일, 7일, 14일째에 희생하여 육안사진 촬영 및 조직학적 분석을 진행하였음.

Burn model에서 구강 경구개를 육안적으로 확인시 Control 군과 큐라틱 처리군에서 육안적으로 유의미한 차이는 보이지 않음. 전 기간에서 염증과 같은 비정상적인 소견은 관찰되지 않았으며, 7일째 화학화상에 의한 손상면적이 많이 감소하였고, 14일째 섬유화 및 창상회복 정도가 유사함. 조직학적 분석으로 창상초기의 재상피화와 화학화상면적을 비교하였을 때 큐라틱 처리군에서 초기의 창상치유를 유의적으로 촉진시키는 것을 확인하였고(3일째 Burn area 감소), 창상 후기에 콜라겐의 생성을 유의적으로 생성 촉진시키는 것을(14일째 collagen 비율 증가) 확인할 수 있었음.

Excision model에서 구강 경구개를 육안적으로 확인시 Control 군과 큐라틱 처리군에서 육안적으로 유의미한 차이는 보이지 않음. 전 기간에서 염증과 같은 비정상적인 소견은 관찰되지 않았으며, 7일째 물리적 절제창상에 의한 손상면적이 많이 감소하였고, 14일째 섬유화 및 창상회복 정도가 유사함. 조직학적 분석으로 창상초기의 재상피화를 비교하였을 때 큐라틱 처리군에서 초기의 창상치유를 유의적으로 촉진시키는 것을 확인하였고 (3일째 Epithelial GAP 감소), 창상 후기에 콜라겐의 생성을 유의적으로 생성 촉진시키는 것을(14일째 collagen 비율 증가) 확인할 수 있었음.

이를 통하여 티비엠(주)에서 제작한 큐라틱은 토끼의 구강 점막의 화학적화상 및 물리적 절제창상 모델에서 창상치유를 촉진시킬 수 있음을 확인함.

목 차

최종보고서	2
최종보고서 승인	4
시험결과 요약	5
목차	6
1. 시험목적	8
2. 재료 및 방법	8
2.1 이식 및 대조 검체	8
2.2 제공자	8
2.3 시험계 정보	9
2.4 사육 환경	9
2.5 시험군의 구성	10
2.6 시험 방법	11
2.7 수술과정	13
2.8 평가항목	14
3. 결과	15
3.1 Burn model에서 큐라틱의 효과	15
3.1.1 육안적 관찰	15
3.1.2 조직학적 검사	16
3.2 Excision model에서 큐라틱의 효과	18
3.2.1 육안적 관찰	18
3.2.2 조직학적 검사	19
4. 결과 분석	21
4.1 Burn model에서 결과 분석	21
4.2 Excision model에서 결과 분석	23
5. 결론	24

목 차(계속)

Appendices	25
A1. Burn model 조직학적 분석	26
A1.1 Burn model에서 시간 경과에 따른 조직학적 변화	26
A1.2 Burn model_조직형태 계측학적 측정	28
A1.3 Burn model_조직형태 계측학적 측정 결과	30
A2. Excision model 조직학적 분석	39
A2.1 Excision model에서 시간 경과에 따른 조직학적 변화	39
A2.2 Excision model_조직형태 계측학적 측정	41
A2.3 Excision model_조직형태 계측학적 측정 결과	43

1. 시험목적

티비엠(주)에서 제작된 구강전용 점착성투명창상피복재 큐라틱은 구강 내 창상의 오염을 방지하고 보호해주며 구내염, 입안상처에 붙여 환부 보호 및 통증을 감소시키는 목적의 의료기기임.

본 시험에서는 토끼의 경구개 구강점막에 직경 4 mm의 화학적 화상(Burn) 및 물리적 절제창상(Excision)을 유발하고 티비엠(주)의 점착성투명창상피복재(큐라틱, Curatick)를 적용하여 3, 7, 14일 기간에 걸쳐 육안적 평가, 조직학적 평가, 조직형태계측학적 분석을 통하여 치유 효과에 대한 객관적 데이터를 확보하고 치유개선에 대한 효능을 입증하고자 함.

2. 재료 및 방법

2.1. 이식 및 대조 검체

시험군	시험군 표기	시험물질	외관 및 성상	보관조건
Control A	B only	-	-	-
Test A	B + Cura	큐라틱	Translucent patch 50*15 mm	Room temperature
Control B	E only	-	-	-
Test B	E + Cura	큐라틱	Translucent patch 50*15 mm	Room temperature

[시험물질 요약]

큐라틱: 구강전용 점착성 투명창상피복재 큐라틱은 구강 내 창상의 오염을 방지하고 보호해 주며 구내염, 입안상처에 붙여 환부 보호 및 통증을 감소시키는 목적의 의료기기임. 한국의 티비엠(주)에서 제조되었으며, 한국 식약처 허가를 취득함.

[시험군 요약]

B only: B + Cura 에 대한 음성대조군으로 화학적 화상 유발 후 아무처치하지 않음

B + Cura: 화학적 화상 유발 후 큐라틱을 24시간 간격으로 교체하며 3일간 적용

E only: E + Cura 에 대한 음성대조군으로 물리적 절제창상 유발 후 아무처치하지 않음

E + Cura: 물리적 절제창상 유발 후 큐라틱을 24시간 간격으로 교체하며 3일간 적용

각 군별로 창상유발 후 3, 7, 14일 째에 토끼를 희생하여(n=6) 육안관찰 및 조직계측학적 분석 실시

2.2. 제공자

1	명칭	- 티비엠(주)
2	주소	- 광주광역시 북구 첨단과기로 313, B-301

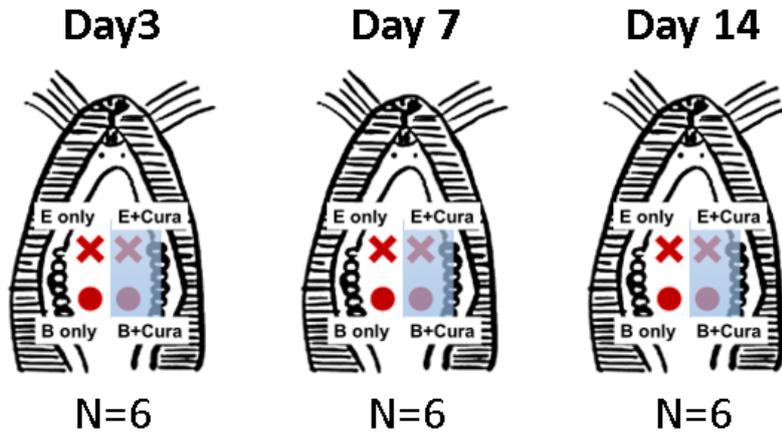
2.3. 시험계 정보

1	계통 및 종	New Zealand White (Rabbit)
2	생산자 및 구입처	(주)샘타코바이오키리아 주소: 경기도 오산시 서랑로 105 전화: 031-372-3636
3	종 및 계통의 선택 이유	본 시험에 사용된 토끼(New Zealand White)는 구강창상 시험에 지금까지 많이 사용되어 왔기 때문에 비교할 많은 생리, 해부 및 독성학적 기초자료가 축적되어 있어 시험결과의 해석 및 평가에 유용함.
4	입수 시 개체 정보 (성별/동물수/월령/체중범위)	수컷/18마리/15주령/2.6~3.0kg
5	시험 시 개체 정보 (성별/동물수/월령/체중범위)	수컷/18마리/15주령/2.6~3.0kg
6	검역 순화	동물입수 시 공급처에서 제공한 시험계의 병원체검사 성적서를 참고로 하여 동물의 검수검역을 실시. 동물입수 후 사육실에 순화시키는 기간을 5일간 두었으며, 그 기간 중 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 사용.
7	개체 및 사육상자 식별	사육상자 내의 개체식별은 입수 후 순화기간부터 시험 전기간동안 ear 마킹법을 실시. 각 군 및 사육상자의 식별을 위해 사육상자 전면에 시험번호, 시험물질명, 군명, 동물번호 등을 기재한 사육상자 카드를 부착하고, 군 간의 식별을 위해 라벨 색을 구분.
8	군 분리	시험물질 적용 전에 체중을 측정하여 층별 연속 무작위법으로 군분리를 실시하였으며, 군 간 평균체중의 유의한 차이가 없음을 확인.
9	잔여동물의 처리	잔여동물은 군 분리 종료 후 시험계로부터 제외시킴.

2.4. 사육 환경

1	동물실 번호	전남대학교 실험동물사 217호
2	사육상자	순화, 검역, 창상 및 관찰기간 중 시험계는 토끼용 스테인레스 케이지(440x620x260 mm, 자체 제작)에 1마리씩 수용.
3	환경조건	본 시험은 온도 20±3℃, 상대습도 50±10%, 환기횟수 10~15회/시간, 조명12시간, 조도 150~300 Lux의 환경조건으로 설정된 일반토끼 사육실에서 실시함.
4	사료 및 음수	사료는 실험동물용 토끼사료(LAB ANIMAL DIET - Rabbit, 38302-AF, PURINA, KOREA)를 자유급이하였고, 음수는 지하수를 자유섭취하도록 공급.

2.5. 시험군의 구성



B only: Chemical burn only group
B+Cura: Chemical burn with Curatick patch application
E only: Excision only group
E+Cura: Excision with Curatick patch application group

그림 1. 시험군 모식도

시험군은 대조군 및 큐라틱 패치를 부착하여 처치한 군으로 나누어 표1과 같이 구분하여 본 실험을 진행함.

표 1. 시험군 설계

Group	Treatment	Site of wound
B only	화학적인 화상 후 처치하지 않음	토끼 경구개 오른쪽 뒷부분
B+Cura	화학적인 화상 후 큐라틱 패치 부착 (24시간마다 교체, 총 72시간)	토끼 경구개 왼쪽 뒷부분
E only	물리적인 절제창상 후 처치하지 않음	토끼 경구개 오른쪽 앞부분
E+Cura	물리적인 절제창상 후 큐라틱 패치 부착 (24시간마다 교체, 총 72시간)	토끼 경구개 왼쪽 앞부분

2.6. 시험 방법

2.6.1. 시료의 형태 및 용량

티비엠(주)에서 제공된 시험물질을 사용하였음.

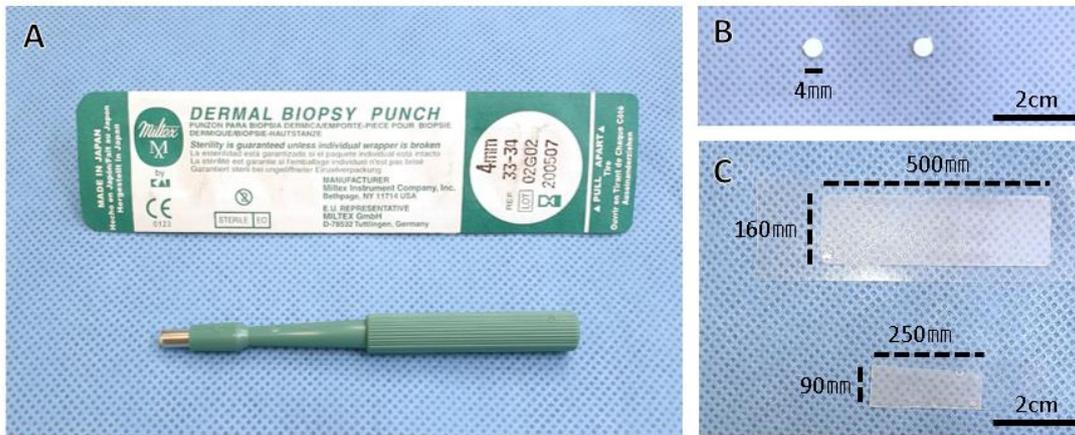
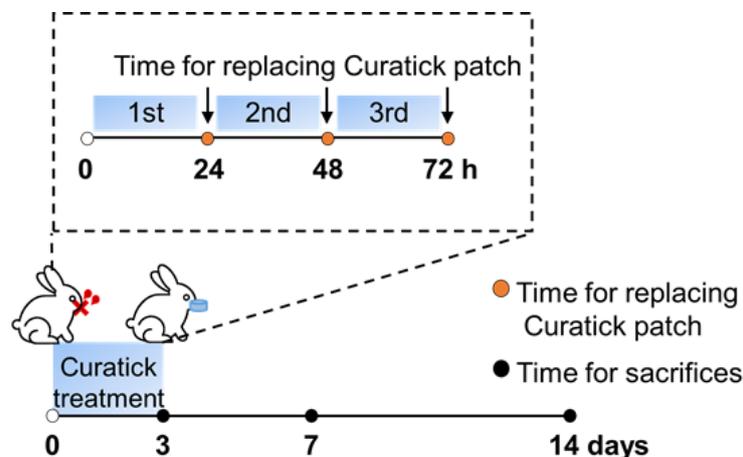


그림 2. 창상 유발 재료 및 시료의 형태

A. 물리적 절제창상 유발에 사용된 직경 4 mm biopsy punch, B. 화학적 화상 유발에 사용된 4 mm 직경의 Whatman filter paper (50% Acetic Acid 용액 적시기 전), C. 점착성투명창상피복제 큐라틱 제품 (토끼 경구개 적용을 위해 250mm*90mm 로 잘라서 사용).

2.6.2. 시험 방법



1) 마취

3 kg의 수컷 토끼(New Zealand White Rabbit, (주)샘타코 BIO KOREA, 대한민국)를 마취 전 진통 효과를 위해 ketoprofen(이글케토프로펜 10% 주, (주)이글벳, 대한민국) 3 mg/kg 과 tramadol hydrochloride (Tramadol HCl Huons Inj., Huons Co., Korea) 10 mg/kg 을 피하주사 하였음. 이 후 전마취제로 xylazine (Rumpun, Bayer Korea Ltd., Korea) 5 mg/kg 을 근육 주사하고, 마취제로 ketamine(유한케타민 50 주, (주)유한양행, Korea) 35 mg/kg 을 근육주사하여 마취를 유도하였음.

2) 경구개 창상 유발

토끼 마취를 유도한 이후 양와위 자세로 보정 이후 개구기를 이용하여 구강내 접근이 가능하도록 고정하였음. 2x2 gauge plug 를 이용하여 기도부로의 이물 유입을 방지하고 구강 내 이물을 생리식염수로 세척하였음. 경구개부 앞쪽 좌우에 4 mm biopsy punch 를 이용하여 두 개의 물리적 절제창상(excision)을 유발하였음. 경구개부 뒤쪽 좌우에는 50% acetic acid 를 적신 4 mm Whatman filter paper 를 1 분간 접촉시켜 화학적 화상(burn)을 유발하였음.

3) 큐라틱의 적용

1. 토끼의 좌측 화학적 화상 및 물리적 절제 창상 유발 부위에는 큐라틱(Curatick, 티비엠㈜, Korea)을 적용하고 6-0 흡수성 봉합사(Monocryl®, Ethicon Co., GA, USA)로 봉합하여 고정시키고, 우측 창상부는 음성대조군으로 아무처리하지 않았음.
2. 큐라틱 최초 적용 이후 3일간 24 시간 간격으로 토끼를 마취하여 이전에 적용하였던 큐라틱의 보호면을 제거하고 새로운 큐라틱을 적용하였음.

2.6.3. 희생 및 검체 채취

모든 동물의 검체 채취는 실험 일정표에 따라 안락사 후 진행함. 각각의 군 분류에 따라 창상발생 후 3일, 7일 및 14일째에 심마취 상태의 토끼 귀정맥에 과포화된 KCl을 주사하여 심정지를 유도하여 희생시킴. 이후 경구개 점막의 창상 정도를 육안으로 확인 및 사진촬영하고, 정상 조직을 포함하여 창상부 조직을 채취하여 10% 중성 포르말린에 고정하였음

2.7. 시험방법 설명

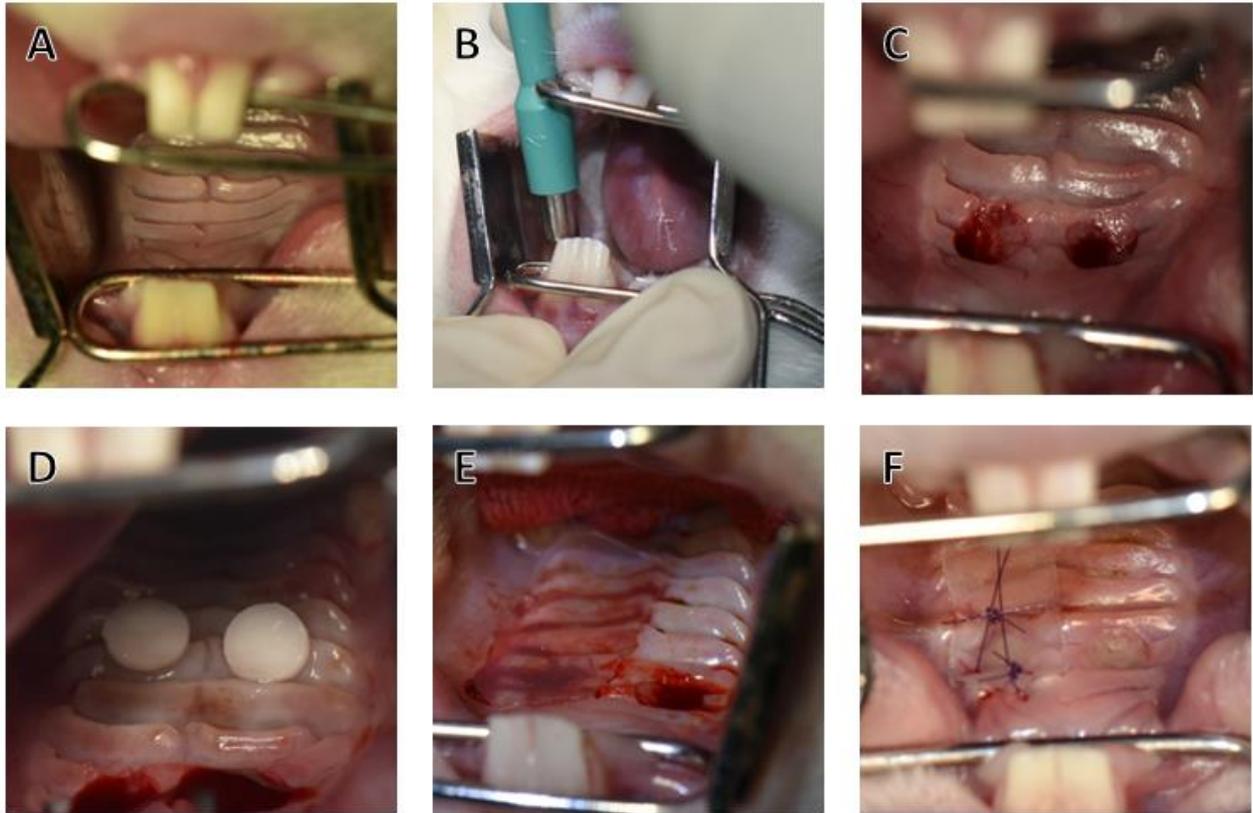


그림 3. 수술 과정

A. 개구기를 이용하여 토끼 경구개 접근이 가능하도록 고정, B&C. 4 mm biopsy punch를 이용하여 원형의 물리적 절제창상(excision)을 유발, D. 50% acetic acid를 적신 4 mm Whatman filter paper를 1분간 접촉시켜 화학적 화상(burn)을 유발, E. 좌측의 물리적 절제창상 및 화학적 화상 유발 부위에 큐라틱을 적용, F. 큐라틱이 경구개에 고정되도록 봉합.

2.8. 평가항목

1. 육안 관찰

1.1 육안 사진 촬영

각각의 군 분류에 따라 창상발생 후 3일, 7일 및 14일째에 안락사 진행 후 경구개 점막의 창상 정도를 육안으로 확인 및 사진촬영.

2. 조직 검사

2.1 조직 슬라이드 제작 및 촬영

1) 조직슬라이드 제작

10% 중성 포르말린에 고정된 경구개 조직을 흐르는 수돗물에서 수세하고 조직 내 고정액을 완전히 제거하였음. 70%에서부터 100% 알코올에 이르기까지 농도 상승 순으로 탈수하고 xylene에 투명과정을 거쳐 파라핀을 침투시켰음(TP1020, Leica, Germany). 파라핀으로 포매 후(Histocore Arcadia, Leica, Germany), Automated Rotary Microtome (HistoCore AUTOCUT, Leica, Germany)을 이용하여 4 μ m 두께로 절편하여 조직표본을 제작함.

2) 조직의 염색

모든 조직은 Leica Autostainer XL 자동염색기(ST5010, Leica, Germany)를 이용하여 Hematoxylin-Eosin(H&E)으로 염색하여 상피재생 시기 및 정도를 확인.

교원섬유 형성에 따른 섬유화의 관찰을 위해 Masson's trichrome(MT)으로 3중 염색하여 광학현미경/디지털 슬라이드 스캐너(Axio Scan.Z1, Zeiss, Germany)를 이용하여 이미지 데이터 확보.

3) 조직형태 계측학적 측정

디지털 슬라이드 스캐너로 획득한 디지털 이미지를 ZEN(Zeiss, Germany)과 ImageJ(NIH, USA) 프로그램을 이용하여 이미지 계측값을 획득. 현미경 관찰은 전체적인 조직표본을 20배 하에서 촬영하였으며 조직형태 계측학적 측정을 위해 필요한 조직표본은 확대하여 계측.



그림 4. 조직형태 계측학적 측정을 필요한 장비 및 프로그램
좌. Axio Scan.Z1과 ZEN 프로그램, 우. ImageJ 프로그램

3. 통계처리

창상유발 후 시간 경과에 따른 창상 크기 및 대조군 대비 실험군의 창상 크기에 대한 평균과 표준편차를 t-test로 유의성을 검정.

3. 결과

3.1. Burn model 에서 큐라틱의 효과

3.1.1. Burn model_육안적 관찰

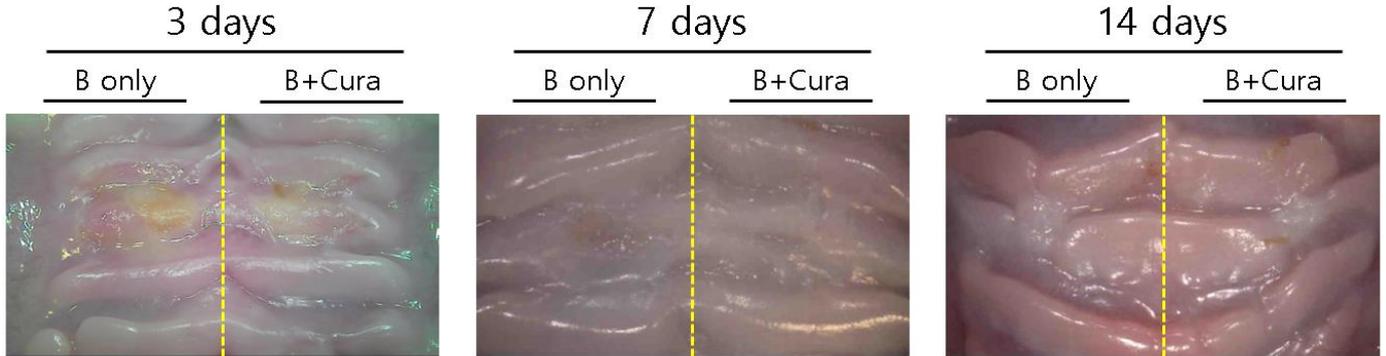


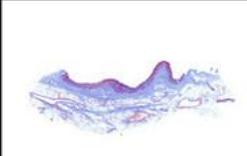
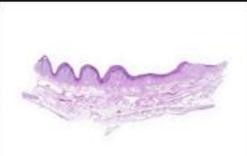
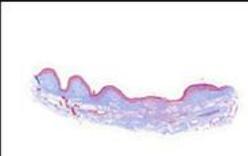
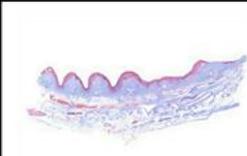
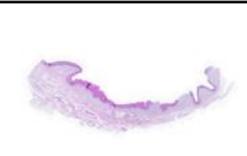
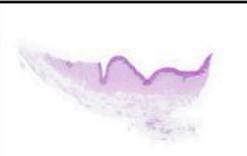
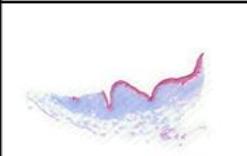
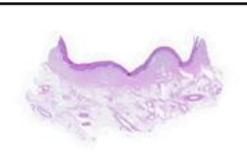
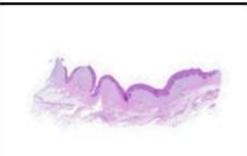
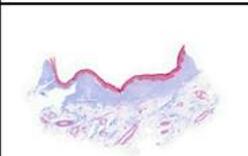
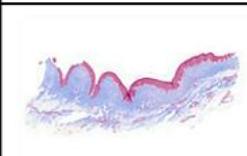
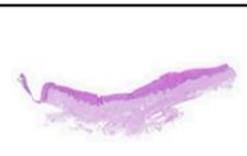
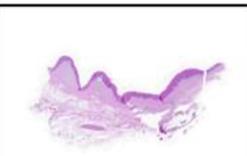
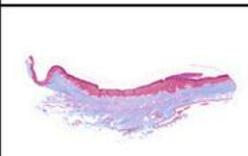
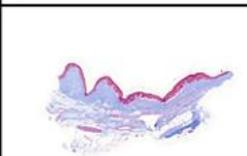
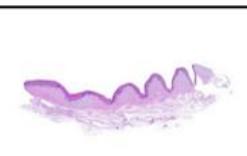
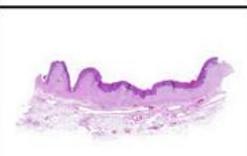
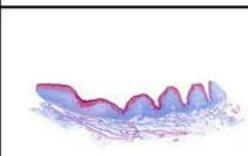
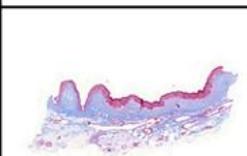
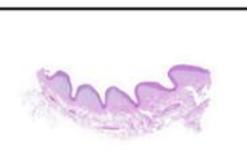
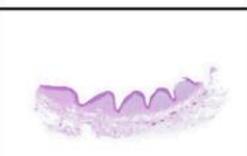
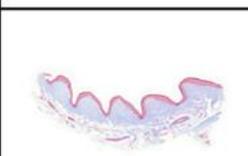
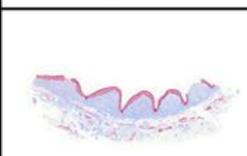
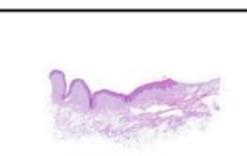
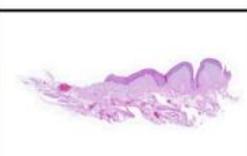
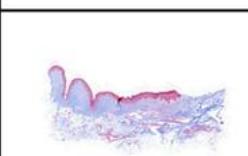
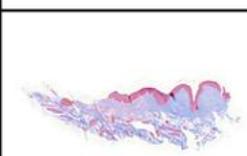
그림 5. 육안사진(대표사진)

창상 유발 3일, 7일, 14일째에 희생 후 경구개 창상부의 육안 관찰 시 큐라틱에 의한 염증 유발 및 비정상적 반응은 관찰되지 않았음. 육안사진 상 7일째 화학화상에 의한 손상 면적이 많이 감소하였으며, 14일째 섬유화가 일어나 창상이 아문 것을 확인함. Control군과 큐라틱 처리군 사이의 창상 회복 정도는 육안상 유의미한 차이점이 보이지 않음

3.1.2. Burn model_조직학적 검사

3.1.2.1. Burn model_H&E, MT 염색(저배율)

Animal ID	H&E stain		MT stain	
	B only	B+Cura	B only	B+Cura
Rabbit 1 (Day3 - 1)				
Rabbit 2 (Day3 - 2)				
Rabbit 3 (Day3 - 3)				
Rabbit 4 (Day3 - 4)				
Rabbit 5 (Day3 - 5)				
Rabbit 6 (Day3 - 6)				
Rabbit 7 (Day7 - 1)				
Rabbit 8 (Day7 - 2)				
Rabbit 9 (Day7 - 3)				

Animal ID	H&E stain		MT stain	
	B only	B+Cura	B only	B+Cura
Rabbit 10 (Day7 - 4)				
Rabbit 11 (Day7 - 5)				
Rabbit 12 (Day7 - 6)				
Rabbit 13 (Day14 - 1)				
Rabbit 14 (Day14 - 2)				
Rabbit 15 (Day14 - 3)				
Rabbit 16 (Day14 - 4)				
Rabbit 17 (Day14 - 5)				
Rabbit 18 (Day14 - 6)				

3.2. Excision model 에서 큐라틱의 효과

3.2.1. Excision model_육안적 관찰

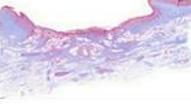
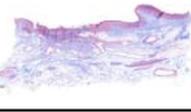
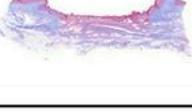
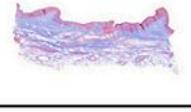
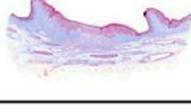


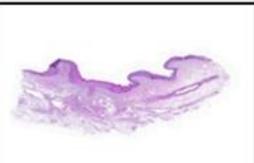
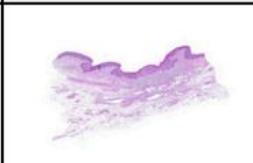
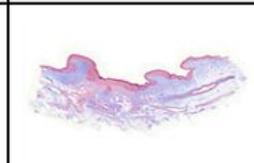
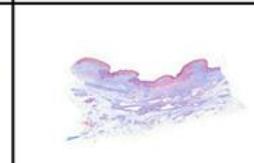
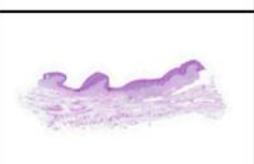
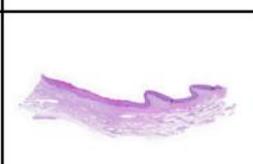
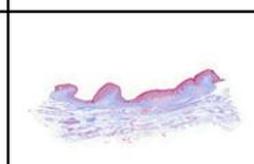
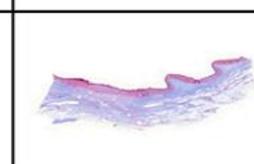
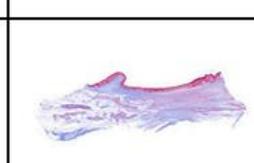
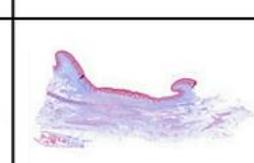
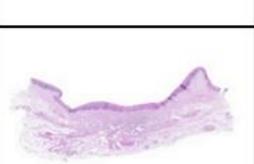
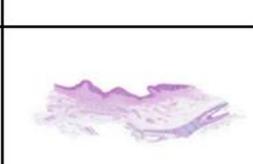
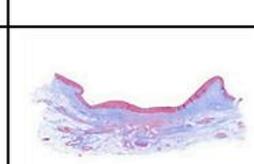
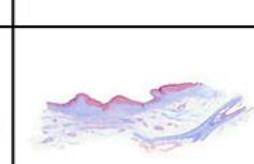
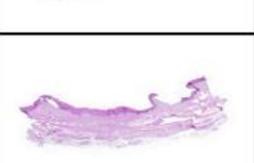
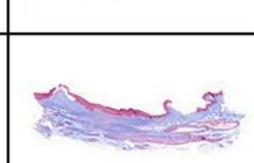
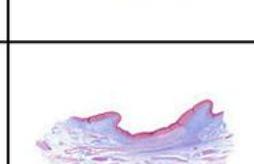
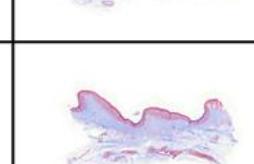
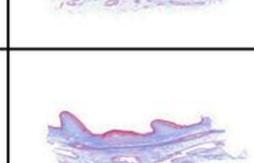
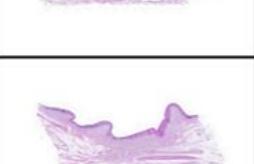
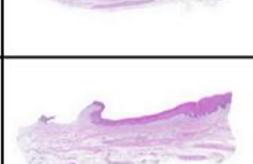
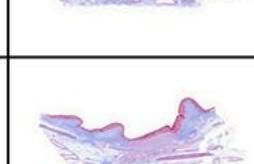
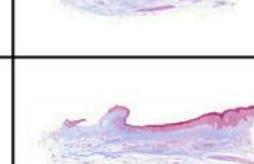
그림 6. 육안사진(대표사진)

창상 유발 3일, 7일, 14일째에 희생 후 경구개 창상부의 육안 관찰 시 큐라틱에 의한 염증 유발 및 비정상적 반응은 관찰되지 않았음. 육안사진 상 7일째 물리적 절제창상에 의한 손상 면적이 많이 감소하였으며, 14일째 창상이 아문 것을 확인함. Control군과 큐라틱 처리군 사이의 창상 회복 정도는 육안상 유의미한 차이점이 보이지 않음.

3.2.2. Excision model_조직학적 검사

3.2.2.1. Excision model_H&E, MT 염색(저배율)

Animal ID	H&E stain		MT stain	
	E only	E+Cura	E only	E+Cura
Rabbit 1 (Day3 - 1)				
Rabbit 2 (Day3 - 2)				
Rabbit 3 (Day3 - 3)				
Rabbit 4 (Day3 - 4)				
Rabbit 5 (Day3 - 5)				
Rabbit 6 (Day3 - 6)				
Rabbit 7 (Day7 - 1)				
Rabbit 8 (Day7 - 2)				
Rabbit 9 (Day7 - 3)				

Animal ID	H&E stain		MT stain	
	E only	E+Cura	E only	E+Cura
Rabbit 10 (Day7 - 4)				
Rabbit 11 (Day7 - 5)				
Rabbit 12 (Day7 - 6)				
Rabbit 13 (Day14 - 1)				
Rabbit 14 (Day14 - 2)				
Rabbit 15 (Day14 - 3)				
Rabbit 16 (Day14 - 4)				
Rabbit 17 (Day14 - 5)				
Rabbit 18 (Day14 - 6)				

4. 결과 분석

4.1. Burn model에서 결과분석

4.1.1. Burn model_육안적 관찰 결과

육안 사진 촬영 분석 결과 7일째 창상 회복이 거의 완료된 것으로 보이고, 14일째 점유화 및 창상이 아문 것을 관찰하였음. 육안사진상 Control군과 큐라틱 처리군의 창상 회복 양상은 유의미한 차이를 보이지 않음.

4.1.2. Burn model_조직학적 관찰 결과

4.1.2.1. Burn model_Epithelial gap, Burn area

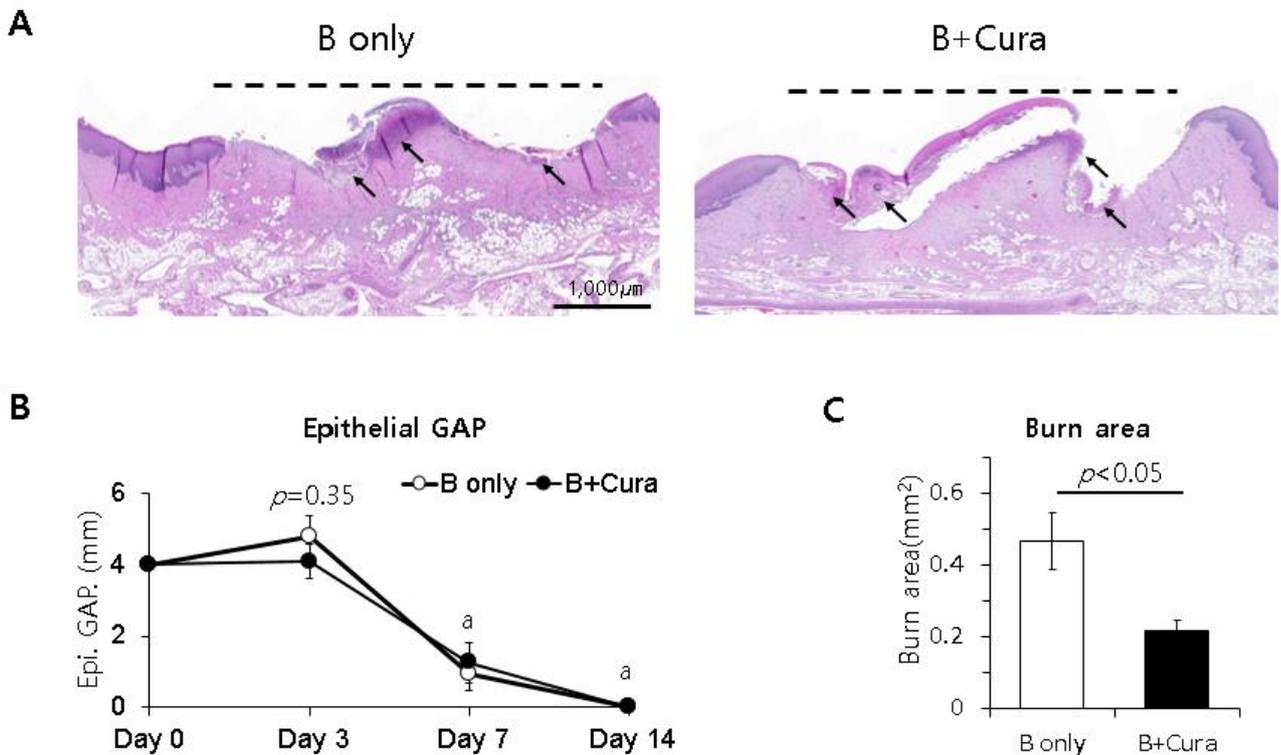


그림 7. 화학적 화상(Burn) 모델에서 큐라틱 적용에 의한 상피간 거리와 화상 면적 변화 비교

A. 수술 후 3일째 획득한 Burn only와 Burn + Cura 그룹의 조직 사진 (H&E 염색, Scale bar 1,000 um). B. Epithelial GAP을 측정하여 비교 분석한 그래프. C. Burn area를 측정하여 비교 분석한 그래프

채취한 창상 조직 샘플을 H&E와 MT 염색을 통하여 조직학적 평가를 실시하였음(그림 49-50). H&E 염색된 조직 사진에서 탈락된 상피를 확인할 수 있었으며, 재생피화가 진행됨에 따라서 탈락되지 않은 상피와 상피 사이의 거리인 Epithelial GAP을 측정하여 상피의 재생 속도를 분석하였고 3일째(Day 3 Burn only: 4.80 ± 0.56 mm)와 비교하여 7일(Day 7 Burn only: 0.93 ± 0.44 mm, $p < 0.001$), 14일(Day 14 Burn only: 0.00 ± 0.00 mm, $p < 0.001$)에 그 측정값이 유의적으로 감소되는 양상을 보였음. 실험 3일째 Control군과 큐라틱 처리군의 비교에서 Epithelial GAP 측정값은 유의적인 차이를 보이지 않았지만(Burn only: 4.80 ± 1.37 mm, Burn + Cura: 4.09 ± 1.16 mm, $p = 0.35$), 손상된 피부조직의 화학화상 면적을 확인하기 위한 Burn area 분석에서 큐라틱을 적용한 샘플이 유의적으로 더 낮은 측정값을 나타냄(Burn only: 0.47 ± 0.19 mm², Burn + Cura: 0.22 ± 0.07 mm², $p < 0.05$).

4.1.2.2. Burn model_Collagen 함량

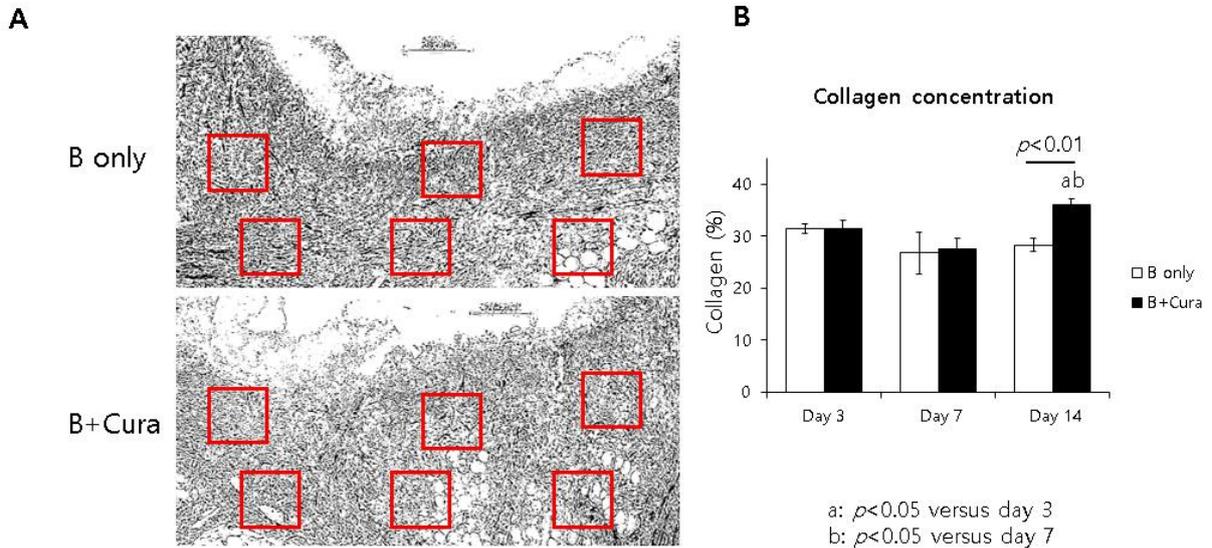


그림 8. 화학적 화상(Burn) 모델에서 큐라틱 적용에 의한 재생산 콜라겐 함량 변화 비교

A. 수술 후 3일째 획득한 Burn only와 Burn + Cura 그룹의 조직 사진 (MT 염색). B. 각 샘플에서 Collagen (%)을 측정하여 비교 분석한 그래프

MT 염색된 조직 사진에서 창상 유발 부위 피하에서 푸른 색으로 염색된 Collagen 섬유를 관찰하였음. ImageJ 프로그램을 통해 Collagen 섬유의 면적을 퍼센트로 측정하였으며 이를 바탕으로 섬유화 진행속도를 분석하였음. Burn 그룹에서는 3일째(Day 3 Burn only: 31.53±0.97%)와 비교하여 7일(Day 7 Burn only: 26.85±4.02%, $p=0.28$), 14일에(Day 14 Burn only: 28.36±1.30%, $p=0.08$) 그 측정값이 유의적인 차이를 보이지 않음. 큐라틱을 처리한 그룹에서는 3일째(Day 3 Burn + Cura: 31.58±1.50%)와 비교하여 7일째(Day 7 Burn + Cura: 27.54±2.01% $p=0.14$)는 변화가 없었지만, 14일째(Day 14 Burn + Cura: 36.04±1.28% $p<0.05$)에 그 측정값이 유의적으로 증가하였음. 또한 Control군과 큐라틱 처리군의 비교에서 14일째의 Collagen의 측정값은 큐라틱을 적용한 샘플이 유의적으로 더 높은 측정값을 나타냄($p<0.01$).

4.2. Excision model에서 결과분석

4.2.1. Excision model_육안적 관찰 결과

육안 사진 촬영 분석 결과 7일째 창상 회복이 거의 완료된 것으로 보이고, 14일째 섬유화 및 완전한 창상 수복이 관찰되었음. 육안사진상 Control군과 큐라틱 처리군의 창상 회복 양상은 유의미한 차이를 보이지 않음.

4.2.2. Excision model_조직학적 관찰 결과

4.2.2.1. Excision model_Epithelial gap

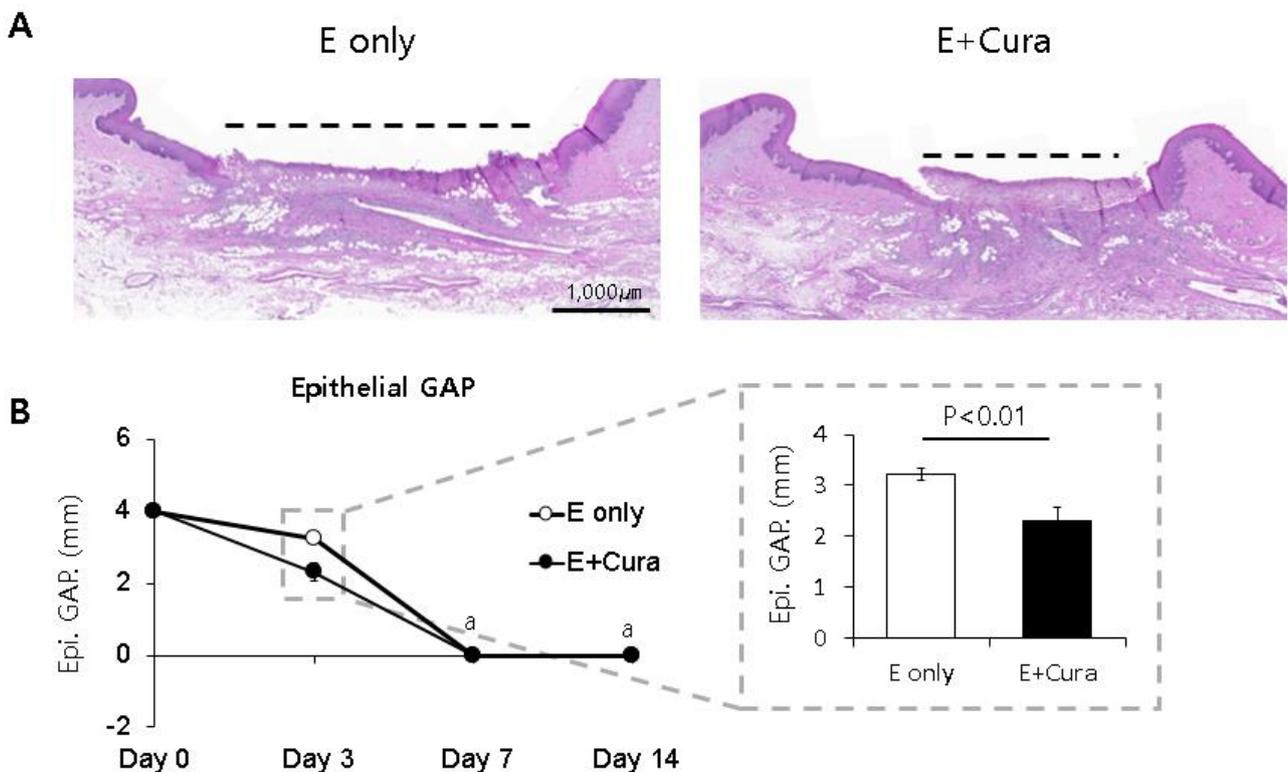


그림 9. 물리적 절제창상(Excision) 모델에서 큐라틱 적용에 의한 상피간 거리 변화 비교

A. 수술 후 3일째 획득한 Excision only와 Excision + Cura 그룹의 조직 사진 (H&E 염색, Scale bar 1,000 um). B. 각 샘플에서 Epithelial GAP을 측정하여 비교 분석한 그래프

채취한 창상 조직 샘플을 H&E와 MT 염색을 통하여 조직학적 평가를 실시하였음(그림 51-52). H&E 염색된 조직 사진에서 탈락된 상피를 확인할 수 있었으며, 재생피화가 진행됨에 따라서 탈락되지 않은 상피와 상피 사이의 거리인 Epithelial GAP을 측정하여 상피의 재생 속도를 분석하였고 3일째(Day 3 Excision only: 3.22 ± 0.27 mm)와 비교하여 7일(Day 7 Excision only: 0.00 ± 0.00 mm, $p < 0.001$), 14일(Day 14 Excision only: 0.00 ± 0.00 mm, $p < 0.001$)에 그 측정값이 유의적으로 감소되는 양상을 보였음. 또한 실험 3일째 Control군과 큐라틱 처리군의 비교에서 Epithelial GAP 측정값은 유의적으로 감소되는 양상을 보였음(Excision only: 3.22 ± 0.27 mm, Excision + Cura: 2.31 ± 0.63 mm, $p < 0.01$)

4.2.2.2. Excision model_Collagen 함량

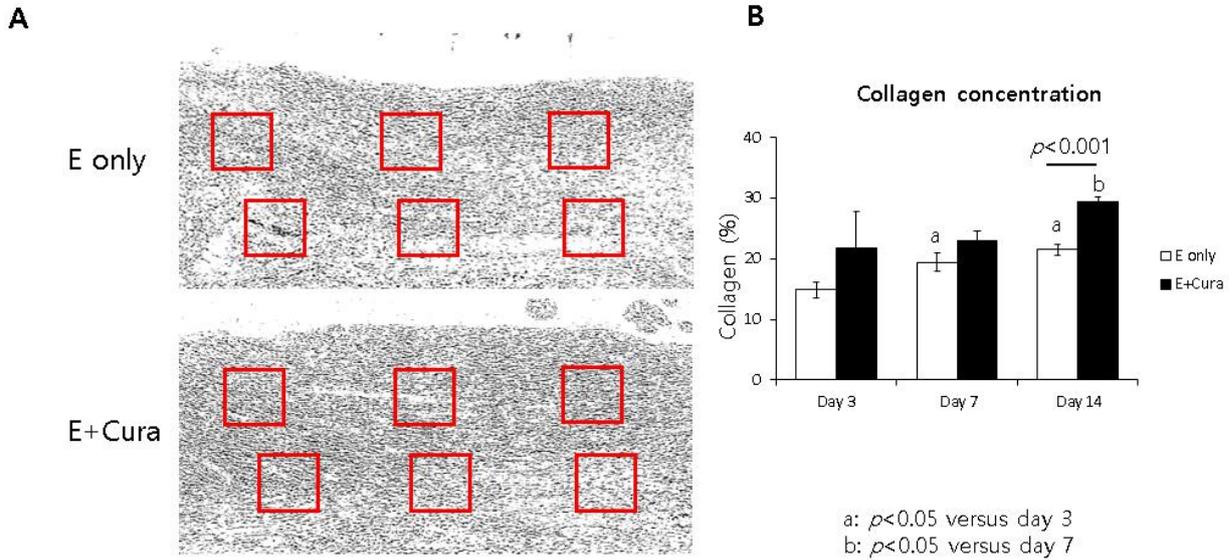


그림 10. 물리적 절제 창상(Excision) 모델에서 큐라틱 적용에 의한 재생산 콜라겐 함량 변화 비교

A. 수술 후 3일째 획득한 Excision only와 Excision + Cura 그룹의 조직 사진 (MT 염색). B. 각 샘플에서 Collagen (%)을 측정하여 비교 분석한 그래프

MT 염색된 조직 사진에서 창상 유발 부위 피하에서 푸른 색으로 염색된 Collagen 섬유를 관찰하였음. ImageJ 프로그램을 통해 Collagen 섬유의 면적을 퍼센트로 측정하였으며 이를 바탕으로 섬유화 진행속도를 분석하였음.

Excision 그룹에서는 3일째(Day 3 Excision only: $14.93 \pm 3.22\%$)와 비교하여 7일(Day 7 Excision only: $19.45 \pm 3.52\%$, $p < 0.05$), 14일에(Day 14 Excision only: $21.56 \pm 2.18\%$, $p < 0.05$) 그 측정값이 유의적으로 증가하는 양상을 보였으며, 큐라틱을 처리한 그룹에서는 3일째(Day 3 Excision + Cura: $21.71 \pm 14.73\%$)와 비교하여 7일(Day 7 Excision + Cura: $19.45 \pm 3.52\%$, $p = 0.83$), 14일에(Day 14 Excision + Cura: $29.48 \pm 1.92\%$, $p = 0.22$)로 그 측정값이 유의적으로 변화 없는 양상을 보였지만 Control군과 큐라틱 처리군의 비교에서 14일째의 Collagen의 측정값은 큐라틱을 적용한 샘플이 유의적으로 더 높은 측정값을 나타냄($p < 0.001$).

5. 결론

이를 통하여 티비엠(주)에서 제작한 큐라틱은 토끼의 구강 점막의 화학적화상(Burn) 및 물리적 절제창상(Excision) 모델에서 창상치유를 촉진시킬 수 있음을 확인함.

Appendices

A1. Burn model 조직학적 분석

A1.1. Burn model 에서 시간 경과에 따른 조직학적 변화

B only, Day 3

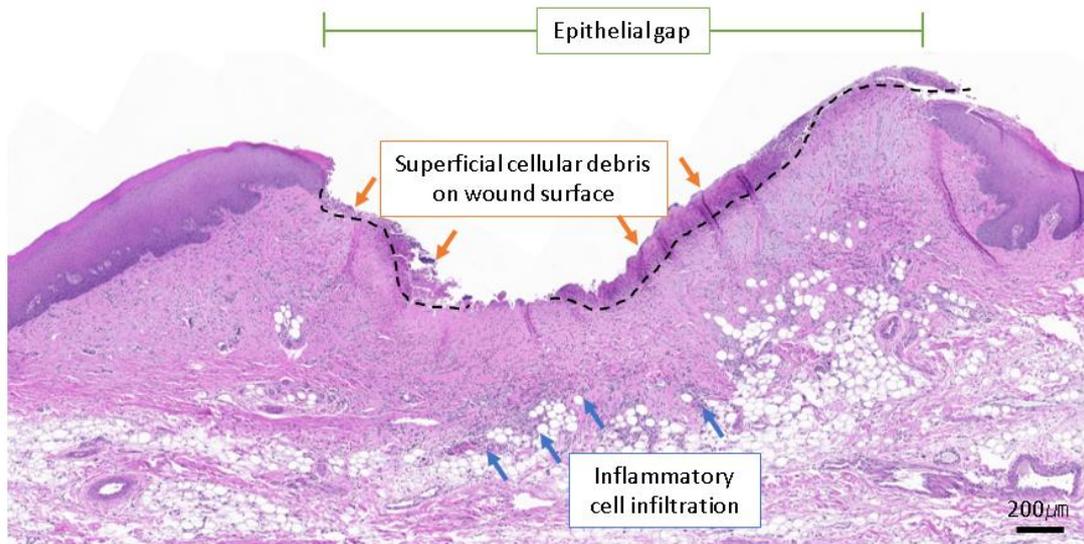


그림 11. 화학적인 화상(Chemical Burn) 3일 후의 구강 조직

화학적 화상으로 인하여 상피 표면이 탈락되었으며 이 간격을 Epithelial gap [녹색 길이] 이라고 함. 화학적인 화상 부위에서 출혈은 관찰되지 않음. 탈락된 상피표면부위에는 acetic acid에 의한 손상으로 피하조직이 손상되어 cellular debris [주황색 화살표]를 형성. 화학적인 화상에 의해 염증반응이 유도되었으며 피하층에서 Inflammatory cell infiltration [파란색 화살표]을 확인할 수 있음.

B only, Day 7

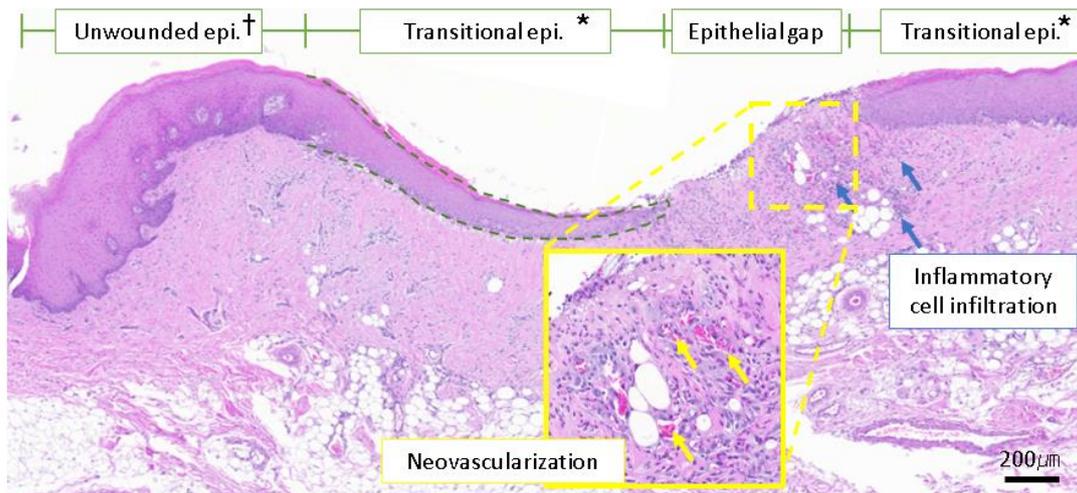


그림 12. 화학적인 화상(Chemical Burn) 7일 후의 구강 조직

화학적 화상으로 인하여 탈락된 상피표면부위를 따라 Unwounded epithelium [녹색 길이, †]에서 상피세포가 이주하며 재생되고 있음. 재생되고 있는 상피를 Transitional Epithelium [녹색 점선] 이라고 함. 아직 재생피화가 다 일어나지 않았기 때문에 Epithelial gap [녹색 길이]이 존재. 화학적인 화상에 의해 염증반응이 유도되었으며 피하층에서 Inflammatory cell infiltration [파란색 화살표]을 확인할 수 있으며 이는 3일에 비해 감소함. 또한 회복중인 피하조직에서 초기상태의 혈관이 신생(Neovascularization) [노란색 화살표]되고 있는 것을 확인할 수 있음.

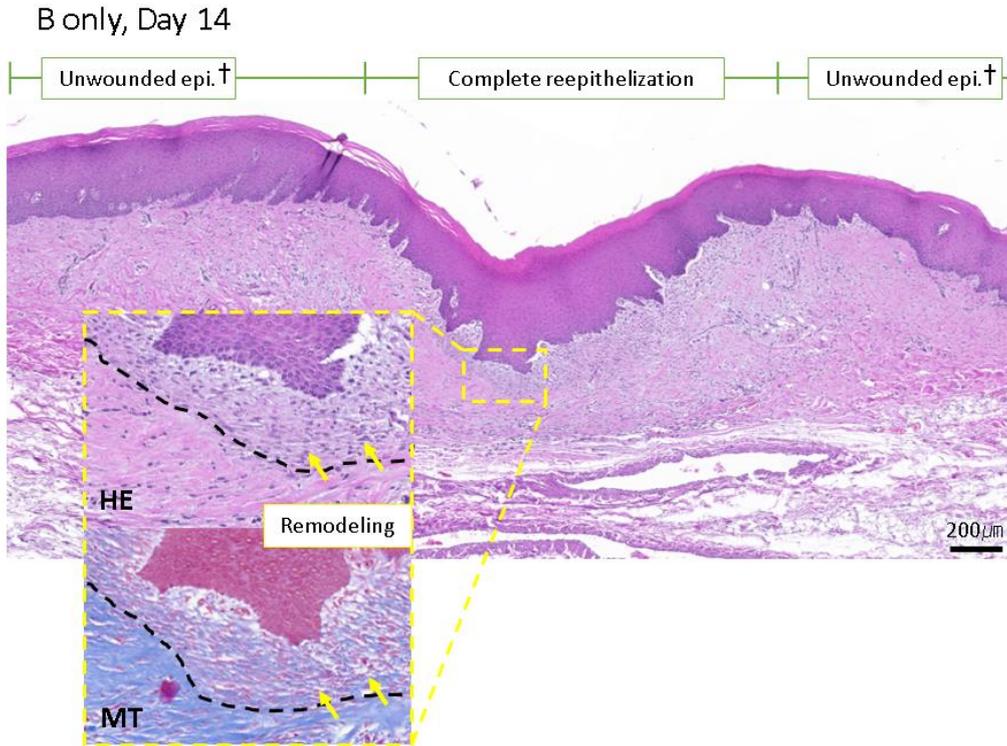


그림 13. 화학적인 화상(Chemical Burn) 14일 후의 구강 조직

화학적 화상으로 인하여 탈락된 상피표면은 reepithelization [녹색 길이]이 완료되어 상피의 손상이 관찰되지 않음. 재상피화가 된 상피와 맞닿아있는 피하조직에는 fibrocyte와 collagen으로 구성되어 있으며 remodeling [노란색 화살표]이 진행중. MT염색을 통해 손상 후 회복 부위와 비손상부위의 경계 [검정색 점선]를 확인할 수 있고 회복부위 [검정색 점선 위쪽]에서 푸른색의 콜라겐 염색이 관찰됨.

A1.2. Burn model_조직형태 계측학적 측정

Day3	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)	Burn area (mm ²)
B only	1	4.46	31.29	0.52
	2	3.10	27.63	0.38
	3	6.86	34.09	0.59
	4	4.16	30.12	0.77
	5	6.00	32.91	0.25
	6	4.21	33.14	0.30
MEAN		4.80	31.53	0.47
SD		1.37	2.38	0.19
Day3	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)	Burn area (mm ²)
B + Cura	1	4.49	34.29	0.24
	2	3.36	29.17	0.24
	3	4.83	26.19	0.09
	4	5.45	30.22	0.21
	5	2.19	36.03	0.21
	6	4.20	33.59	0.30
MEAN		4.09	31.58	0.22
SD		1.16	3.68	0.07
Day7	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)	Burn area (mm ²)
B only	1	1.24	22.02	0.00
	2	0.00	46.40	0.00
	3	0.86	23.93	0.00
	4	2.91	20.75	0.00
	5	0.56	26.98	0.00
	6	0.00	21.01	0.00
MEAN		0.93	26.85	0.00
SD		1.09	9.85	0.00
Day7	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)	Burn area (mm ²)
B + Cura	1	1.93	20.34	0.00
	2	0.60	28.14	0.00
	3	0.26	28.68	0.00
	4	3.77	24.12	0.00
	5	0.97	34.88	0.00
	6	0.00	29.08	0.00
MEAN		1.25	27.54	0.00
SD		1.40	4.93	0.00

Title: 큐라틱 적용 유무에 따른 치주조직 및 구강 점막 상처의 치유효과 확인을 위한 전임상 유효성 평가

Day14	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)	Burn area (mm ²)
B only	1	0.00	24.22	0.00
	2	0.00	29.90	0.00
	3	0.00	24.83	0.00
	4	0.00	28.38	0.00
	5	0.00	31.07	0.00
	6	0.00	31.77	0.00
MEAN		0.00	28.36	0.00
SD		0.00	3.19	0.00
Day14	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)	Burn area (mm ²)
B + Cura	1	0.00	33.43	0.00
	2	0.00	40.11	0.00
	3	0.00	37.03	0.00
	4	0.00	31.60	0.00
	5	0.00	35.83	0.00
	6	0.00	38.21	0.00
MEAN		0.00	36.04	0.00
SD		0.00	3.13	0.00

A1.3. Burn model_조직형태 계측학적 측정 결과
Burn model DAY3 (Rabbit 1)

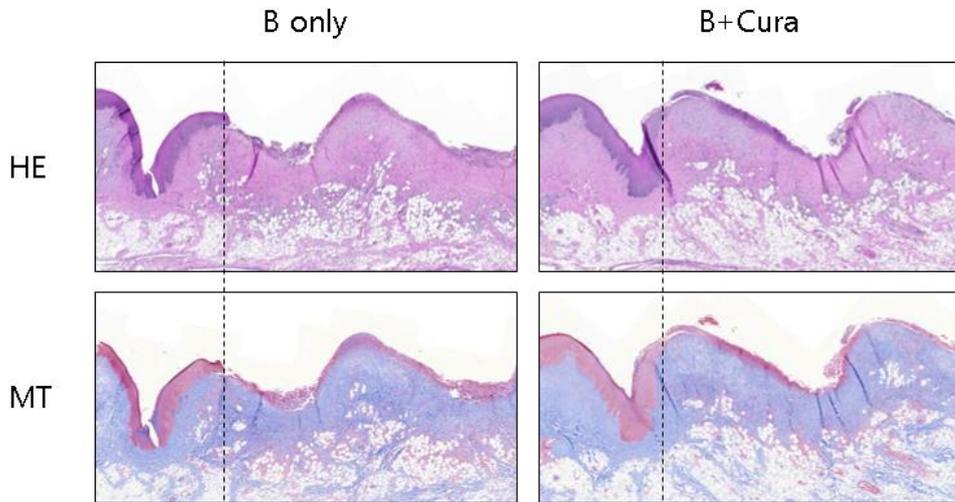


그림 14. 수술 후 3일째 희생된 토끼 1번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.
점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상으로 모든 군에서 상피탈락이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 4.46 mm, B+Cura 군에서 4.49 mm로 관찰됨. 또한, Acetic acid에 의한 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 B only 군에서 0.52 mm², B+Cura 군에서 0.24 mm²로 관찰 됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 31.29 %, B+Cura 군에서 34.29 %로 관찰됨.

Burn model DAY3 (Rabbit 2)

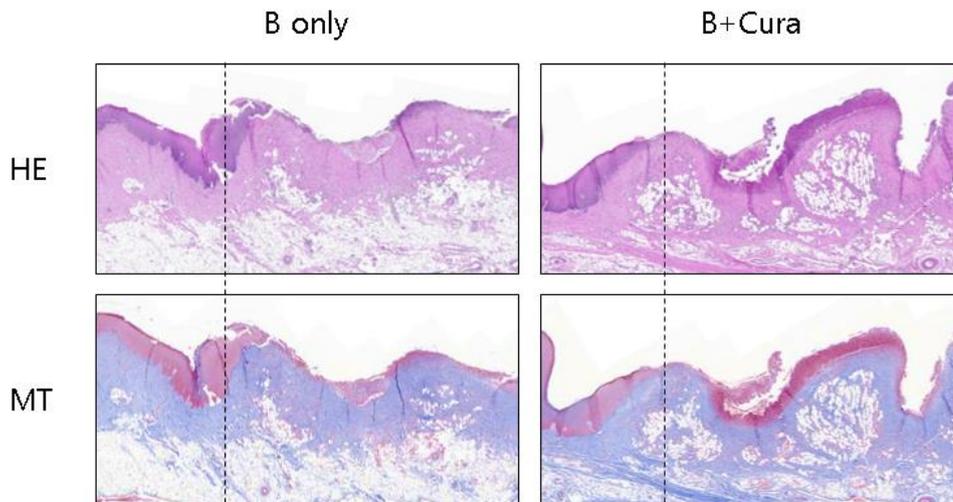


그림 15. 수술 후 3일째 희생된 토끼 2번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상으로 상피탈락이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 3.10 mm, B+Cura 군에서 3.36 mm로 관찰됨. 또한, Acetic acid에 의한 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 B only 군에서 0.38 mm², B+Cura 군에서 0.24 mm²로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 27.63 %, B+Cura 군에서 29.17 %로 관찰됨.

Burn model DAY3 (Rabbit 3)

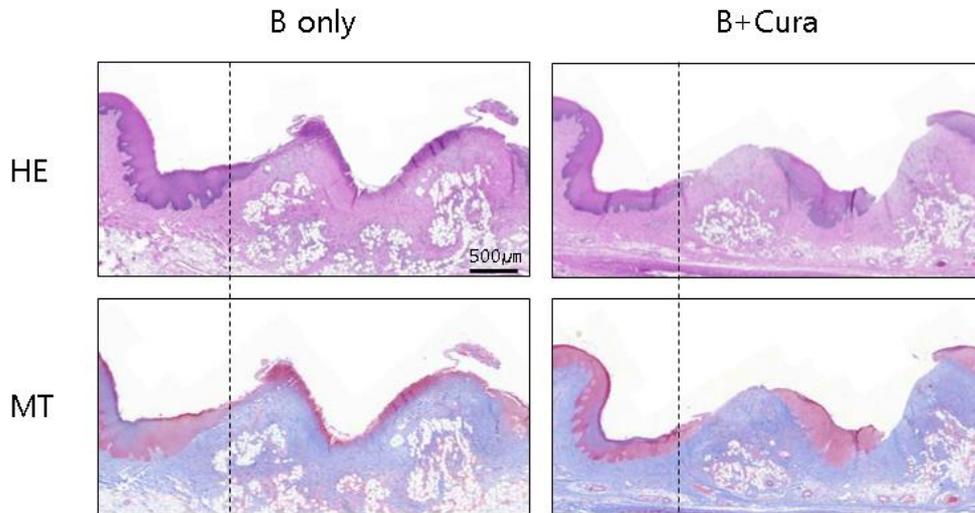


그림 16. 수술 후 3일째 희생된 토끼 3번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid 에 의한 손상으로 상피탈락이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 6.86 mm, B+Cura 군에서 4.83 mm로 관찰됨. 또한, Acetic acid 에 의한 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 B only 군에서 0.59 mm², B+Cura 군에서 0.09 mm²로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 34.09 %, B+Cura 군에서 26.19 %로 관찰됨.

Burn model DAY3 (Rabbit 4)

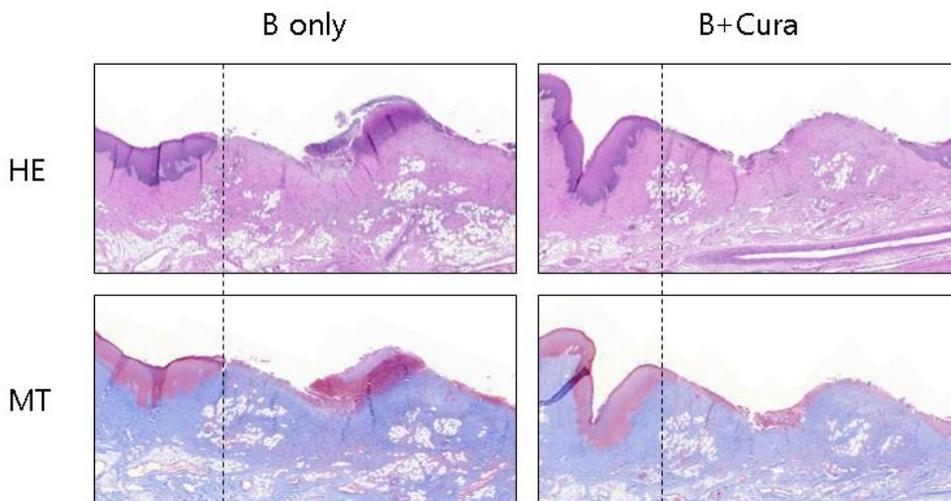


그림 17. 수술 후 3일째 희생된 토끼 4번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid 에 의한 손상으로 상피탈락이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 4.16 mm, B+Cura 군에서 5.45 mm로 관찰됨. 또한, Acetic acid 에 의한 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 B only 군에서 0.77 mm², B+Cura 군에서 0.21 mm²로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 30.12 %, B+Cura 군에서 30.22 %로 관찰됨.

Burn model DAY3 (Rabbit 5)

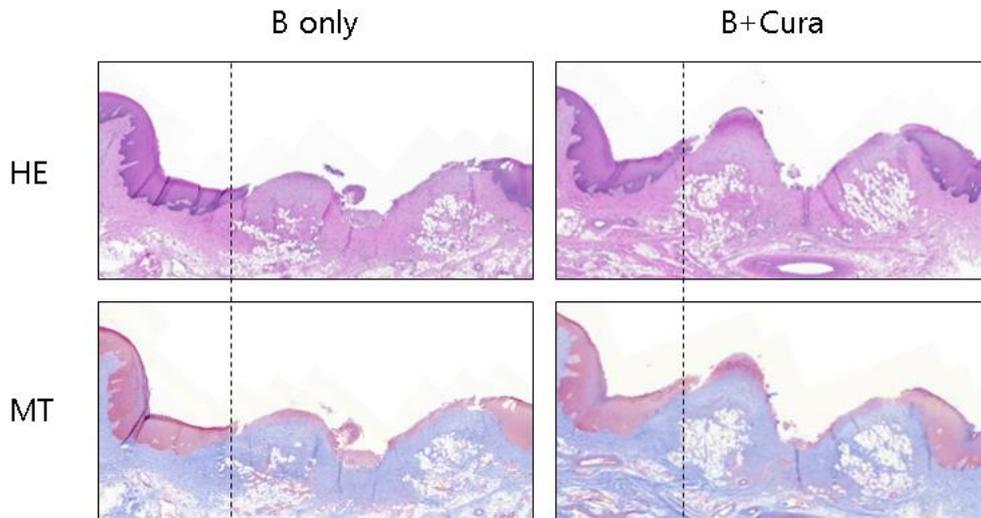


그림 18. 수술 후 3일째 희생된 토끼 5번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상으로 상피탈락이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 6.00 mm, B+Cura 군에서 2.19 mm로 관찰됨. 또한, Acetic acid에 의한 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 B only 군에서 0.25 mm², B+Cura 군에서 0.21 mm²로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 32.91 %, B+Cura 군에서 36.03 %로 관찰됨.

Burn model DAY3 (Rabbit 6)

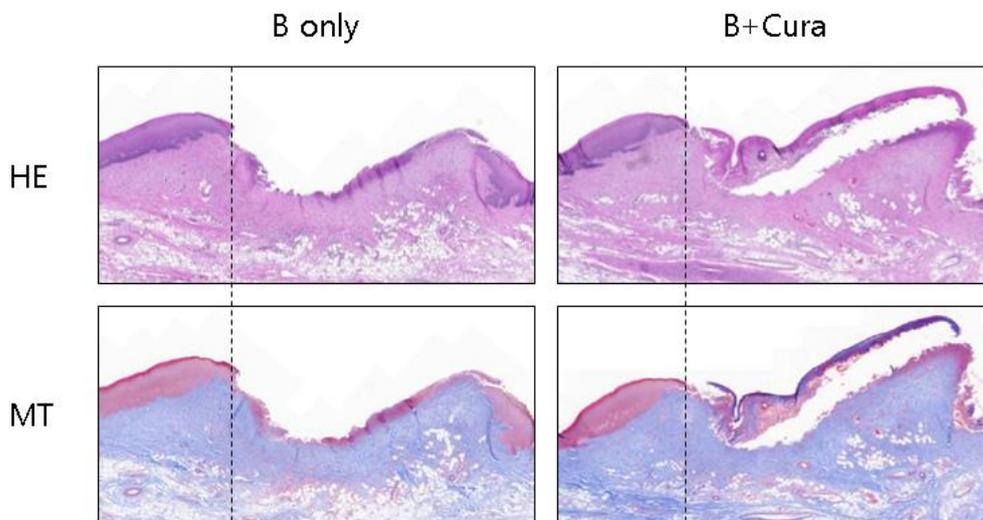


그림 19. 수술 후 3일째 희생된 토끼 6번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상으로 상피탈락이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 4.21 mm, B+Cura 군에서 4.20 mm로 관찰됨. 또한, Acetic acid에 의한 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 B only 군에서 0.30 mm², B+Cura 군에서 0.30 mm²로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 33.14 %, B+Cura 군에서 33.59 %로 관찰됨.

Burn model DAY7 (Rabbit 7)

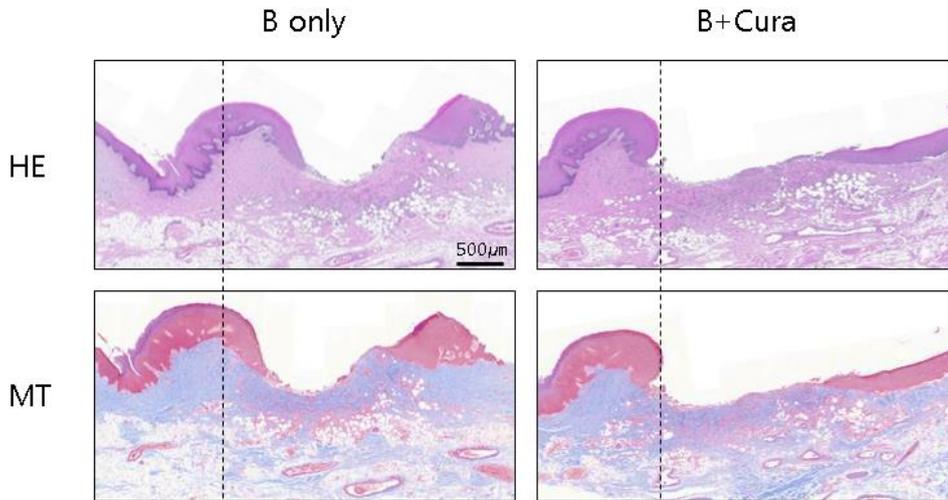


그림 20. 수술 후 7일째 희생된 토끼 7번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상부위는 모든 군에서 재상피화가 진행되고 있는 것이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 1.24 mm, B+Cura 군에서 1.93 mm로 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 22.02 %, B+Cura 군에서 20.34 %로 관찰됨.

Burn model DAY7 (Rabbit 8)

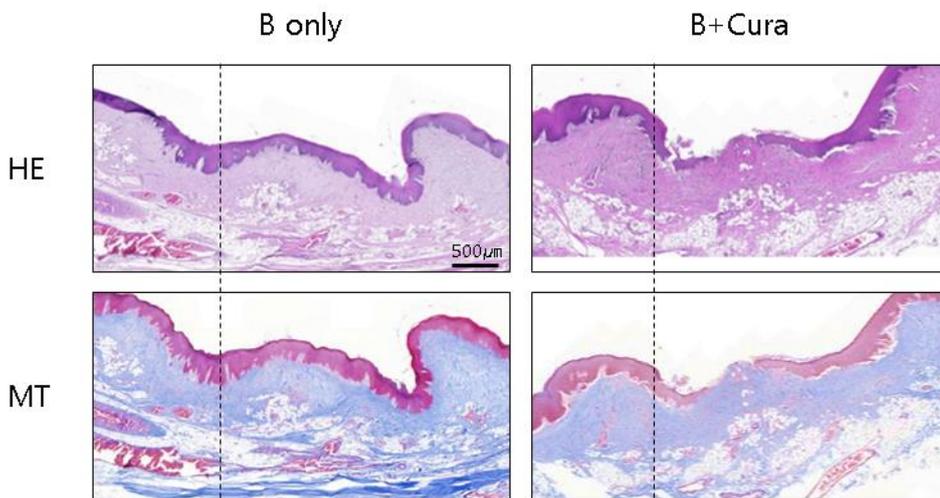


그림 21. 수술 후 7일째 희생된 토끼 8번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상부위에서 재상피화가 진행되고 있는 것이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 0 mm, B+Cura 군에서 0.60 mm로 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 46.40 %, B+Cura 군에서 28.14 %로 관찰됨.

Burn model DAY7 (Rabbit 9)

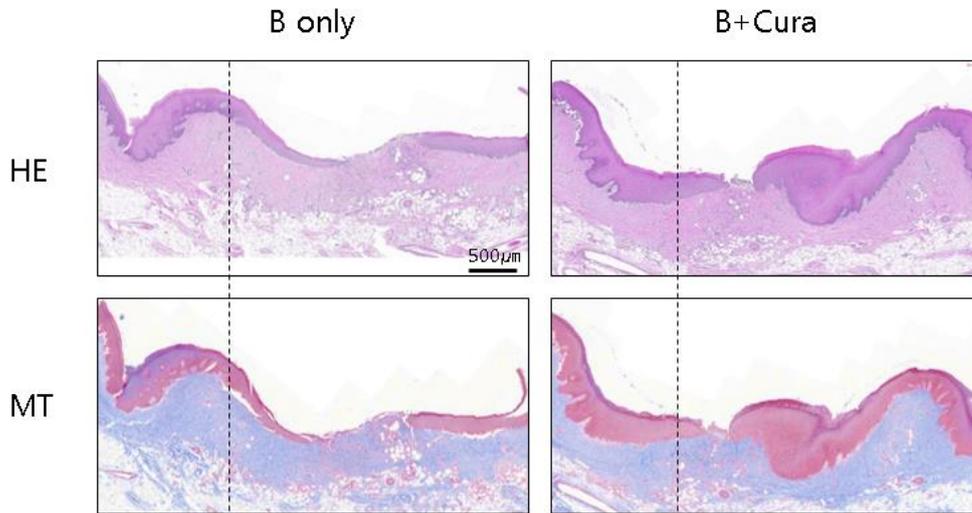


그림 22. 수술 후 7일째 희생된 토끼 9번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상부위에서 재상피화가 진행되고 있는 것이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 0.86 mm, B+Cura 군에서 0.26 mm로 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 23.93 %, B+Cura 군에서 28.68 %로 관찰됨.

Burn model DAY7(Rabbit 10)

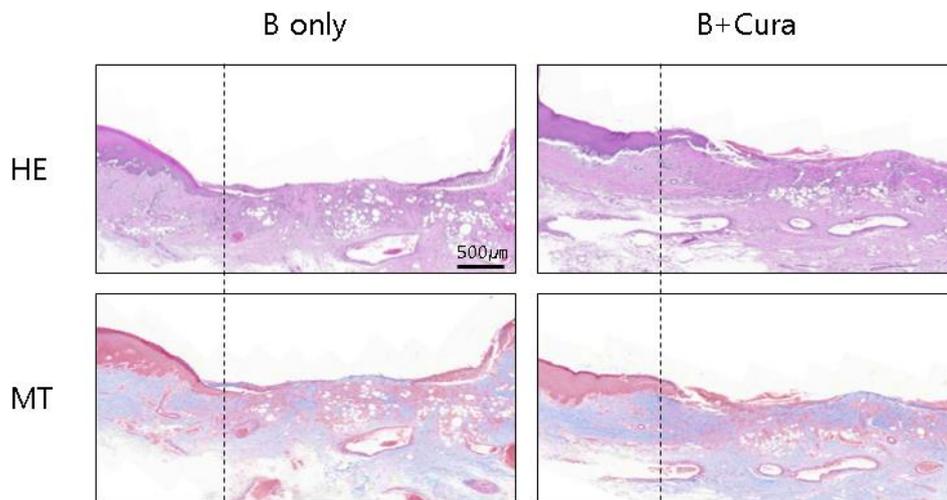


그림 23. 수술 후 7일째 희생된 토끼 10번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상부위에서 재상피화가 진행되고 있는 것이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 2.91 mm, B+Cura 군에서 3.77 mm로 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 20.75 %, B+Cura 군에서 24.12 %로 관찰됨.

Burn model DAY7 (Rabbit 11)

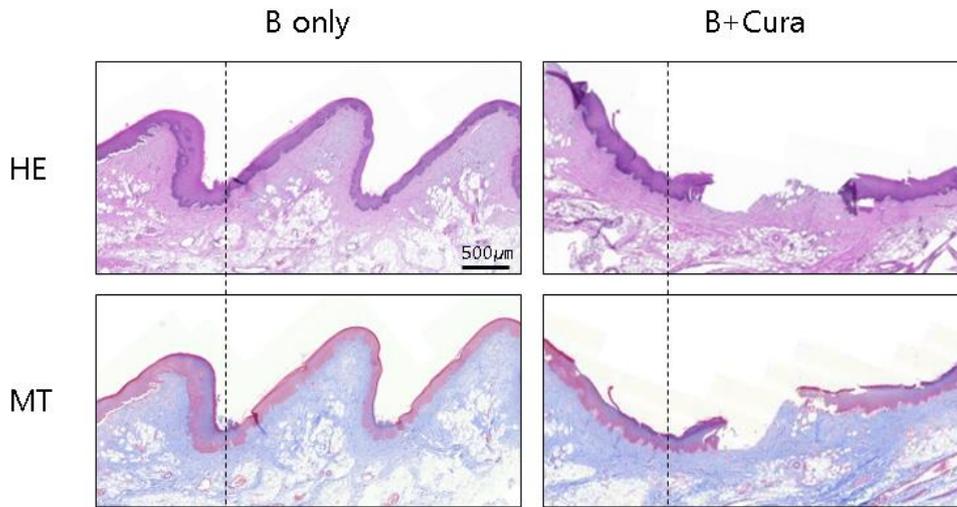


그림 24. 수술 후 7일째 희생된 토끼 11번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상부위에서 재상피화가 진행되고 있는 것이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 0.56 mm, B+Cura 군에서 0.97 mm로 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 26.98 %, B+Cura 군에서 34.88 %로 관찰됨.

Burn model DAY7 (Rabbit 12)

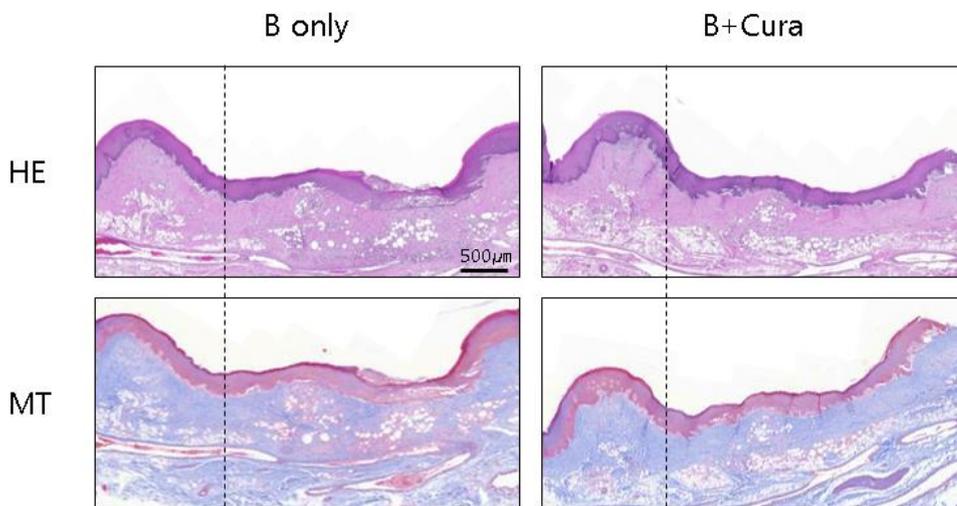


그림 25. 수술 후 7일째 희생된 토끼 12번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의한 손상부위에서 재상피화가 진행되고 있는 것이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 B only 군에서 0 mm, B+Cura 군에서 0 mm로 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 21.01 %, B+Cura 군에서 29.08 %로 관찰됨.

Burn model DAY14 (Rabbit 13)

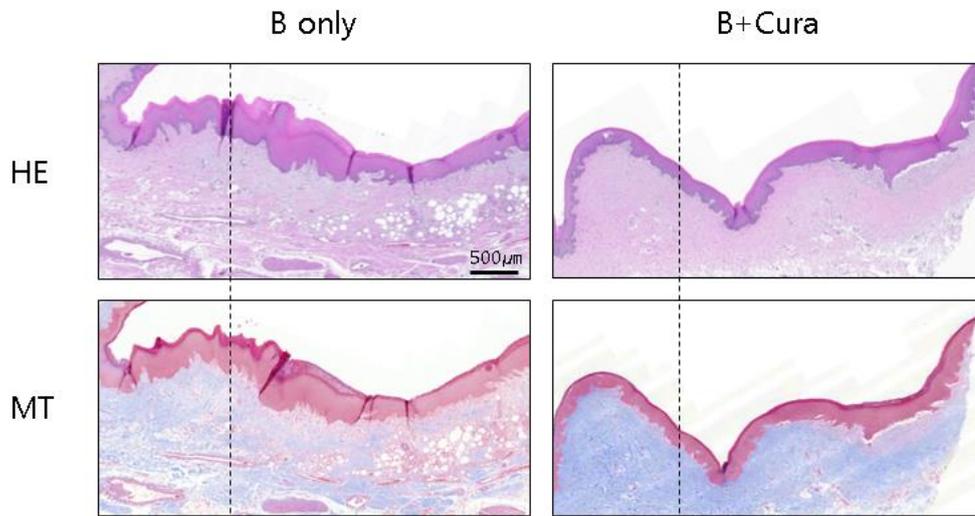


그림 26. 수술 후 14일째 희생된 토끼 13번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 24.22 %, B+Cura 군에서 33.43 %로 관찰됨.

Burn model DAY14 (Rabbit 14)

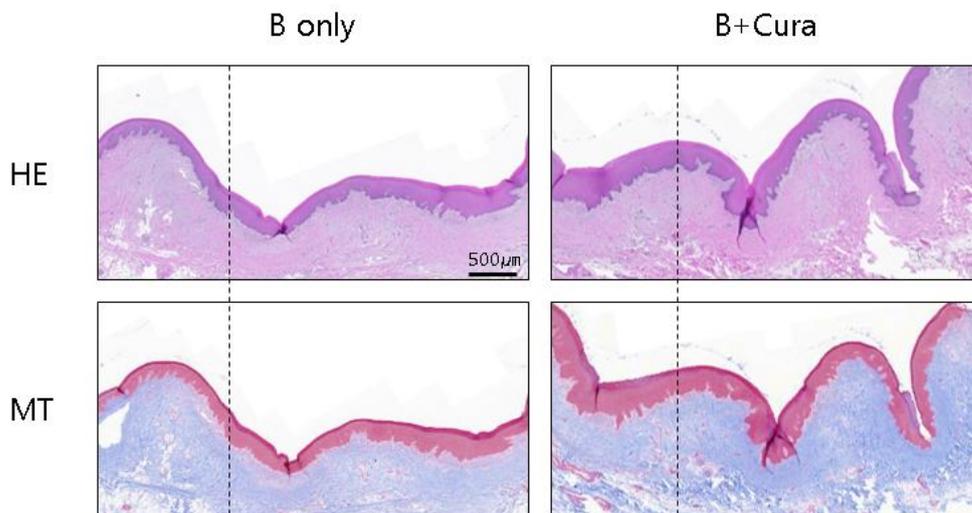


그림 22. 수술 후 14일째 희생된 토끼 14번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 29.90 %, B+Cura 군에서 40.11 %로 관찰됨.

Burn model DAY14 (Rabbit 15)

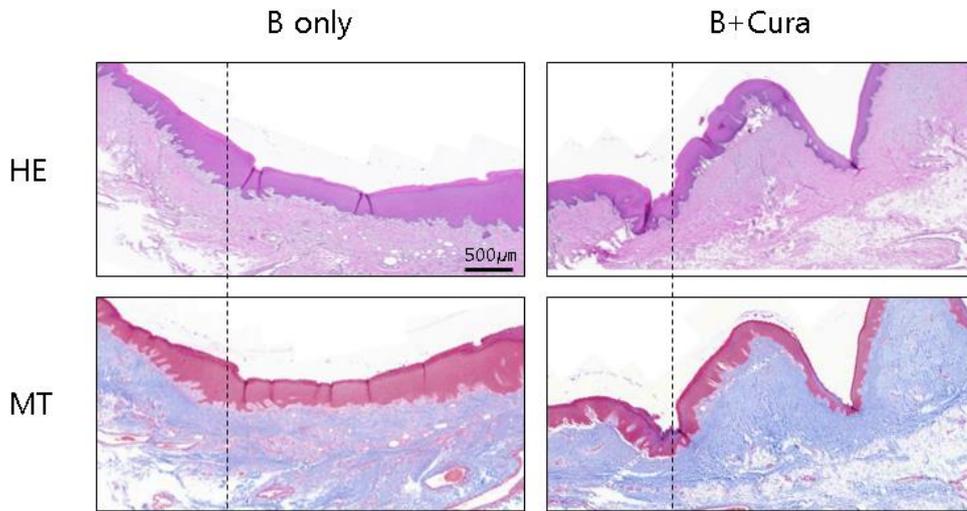


그림 23. 수술 후 14일째 희생된 토끼 15번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 24.83 %, B+Cura 군에서 37.03 %로 관찰됨.

Burn model DAY 14(Rabbit 16)

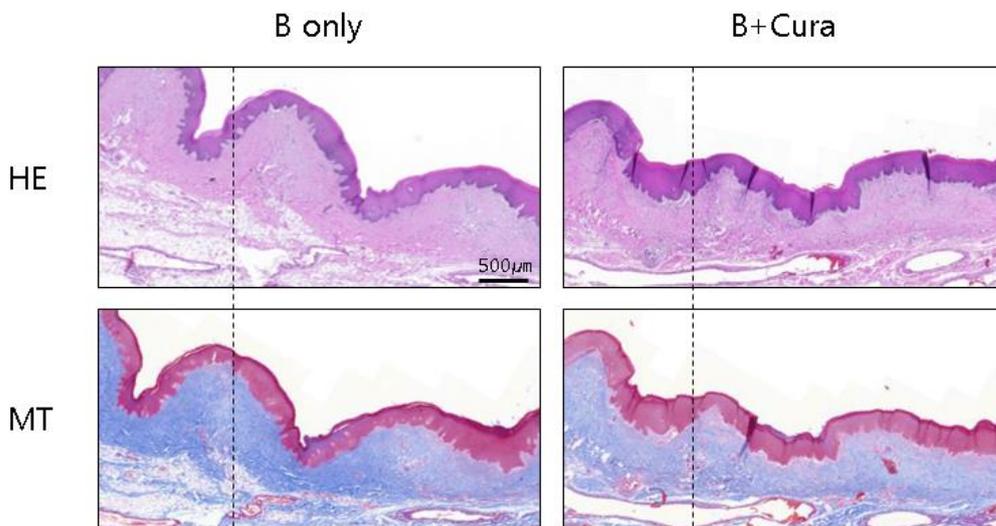


그림 24. 수술 후 14일째 희생된 토끼 16번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 28.38 %, B+Cura 군에서 31.60 %로 관찰됨.

Burn model DAY14 (Rabbit 17)

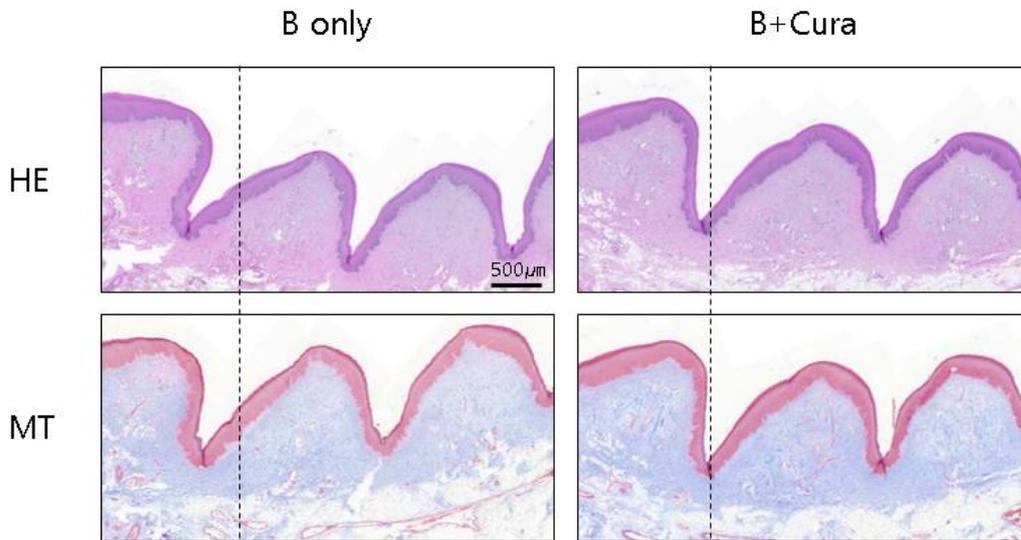


그림 25. 수술 후 14일째 희생된 토끼 17번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 31.07 %, B+Cura 군에서 35.83 %로 관찰됨.

Burn model DAY14 (Rabbit 18)

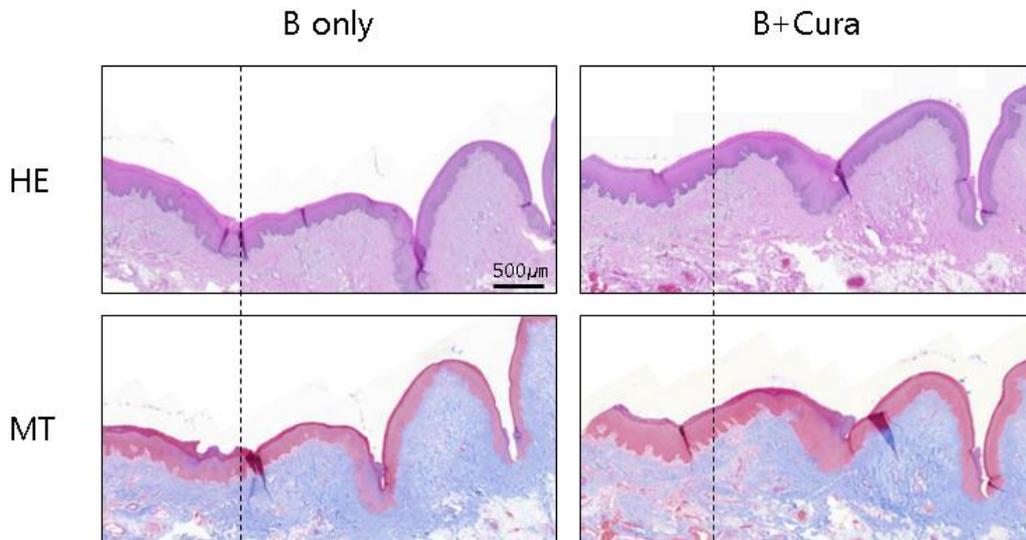


그림 26. 수술 후 14일째 희생된 토끼 18번의 Burn model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진. 점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Acetic acid에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. 손상된 피부조직의 화학화상 면적은 관찰되지 않음. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 B only 군에서 31.77 %, B+Cura 군에서 38.21 %로 관찰됨.

A2. Excision model 조직학적 분석

A2.1. Excision model 에서 시간 경과에 따른 조직학적 변화
E only, Day 3

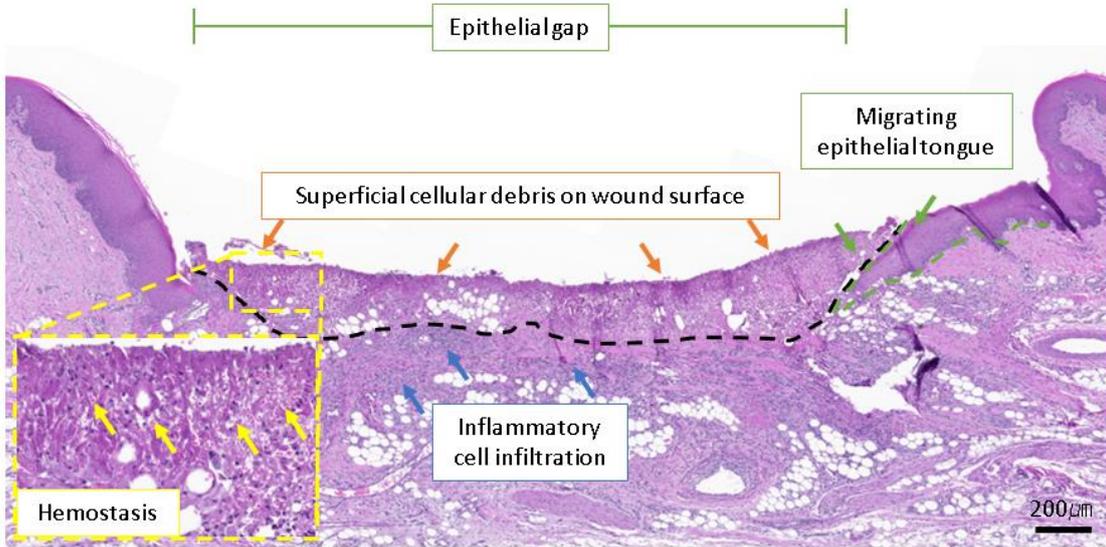


그림 27. 물리적인 절제창상(Excision) 3일 후의 구강 조직

물리적인 절제창상으로 인하여 상피 표면이 탈락되었으며 이 간격을 Epithelial gap [녹색 길이]이라고 함. 탈락된 상피표면부위를 따라 Unwounded epithelium에서 상피세포가 이주하며 재생되고 있으며 혀의 모양과 같아하여 이를 Migrating epithelial tongue [녹색 점선]라고 함. 절제창상 부위에서 적혈구가 관찰되었으며(hemostasis) [노란색 화살표], 탈락된 상피표면 부위에는 절제창상에 의한 손상으로 피하조직이 손상되어 Cellular debris [주황색 화살표]를 형성하고 있음. 절제창상에 의해 염증반응이 유도되었으며 피하층에서 inflammatory cell infiltration [파란색 화살표]을 확인할 수 있음.

E only, Day 7

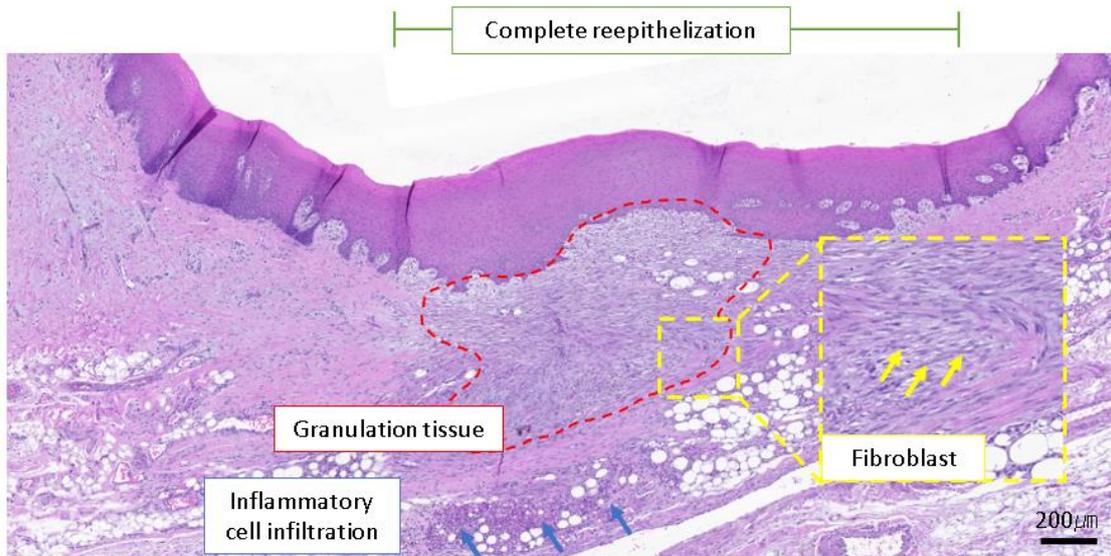


그림 28. 물리적인 절제창상(Excision) 7일 후의 구강 조직

물리적인 절제창상으로 인하여 탈락된 상피표면은 reepithelization [녹색 길이]이 완료되어 상피의 손상이 관찰되지 않음. 피하조직에서 육아조직 [빨간색 점선]이 형성되었으며 fibroblast [노란색 화살표]와 콜라겐으로 구성되어 있음. 물리적인 절제창상에 의해 염증반응이 유도되었으며 피하층에서 Inflammatory cell infiltration [파란색 화살표]을 확인할 수 있으며 이는 3일에 비해 감소함.

E only, Day 14

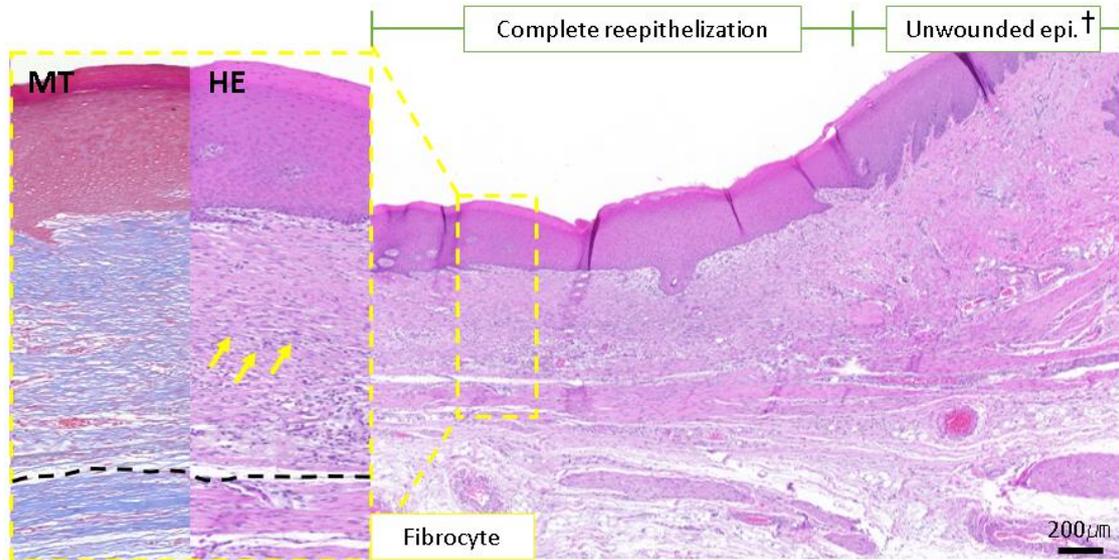


그림 29. 물리적인 절제창상(Excision) 14일 후의 구강 조직

물리적인 절제창상으로 인하여 탈락된 상피표면은 reepithelization이 완료되어 [녹색 길이] 상피의 손상이 관찰되지 않음. 피하조직은 remodeling이 많이 진행되어 fibrocyte [노란색 화살표]와 콜라겐으로 구성되어 있음. MT염색을 통해 손상 후 회복 부위와 비손상부위의 경계 [검정색 점선]를 확인할 수 있고 회복부위 [검정색 점선 위쪽]에서 푸른색의 콜라겐 염색이 관찰됨.

A2.2. Excision model_조직형태 계측학적 측정

Day3	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)
E only	1	3.48	15.64
	2	3.21	17.03
	3	3.21	10.47
	4	2.86	19.60
	5	2.98	14.07
	6	3.58	12.79
MEAN		3.22	14.93
SD		0.28	3.22
Day3	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)
E + Cura	1	3.35	12.31
	2	1.82	12.32
	3	2.31	14.04
	4	2.40	21.89
	5	2.50	50.73
	6	1.51	18.97
MEAN		2.31	21.71
SD		0.63	14.73
Day7	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)
E only	1	0.00	16.67
	2	0.00	17.91
	3	0.00	15.05
	4	0.00	22.62
	5	0.00	20.37
	6	0.00	24.09
MEAN		0.00	19.45
SD		0.00	3.52
Day7	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)
E + Cura	1	0.00	24.78
	2	0.00	25.19
	3	0.00	24.43
	4	0.00	24.36
	5	0.00	24.12
	6	0.00	15.33
MEAN		0.00	23.03
SD		0.00	3.79

Title: 큐라틱 적용 유무에 따른 치주조직 및 구강 점막 상처의 치유효과 확인을 위한 전임상 유효성 평가

Day14	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)
E only	1	0.00	19.27
	2	0.00	18.90
	3	0.00	21.41
	4	0.00	24.61
	5	0.00	22.81
	6	0.00	22.37
MEAN		0.00	21.56
SD		0.00	2.18
Day14	Animal ID	Epithelial gap (mm)	Collagen (%)
E + Cura	1	0.00	26.75
	2	0.00	31.22
	3	0.00	29.65
	4	0.00	29.35
	5	0.00	31.88
	6	0.00	28.03
MEAN		0.00	29.48
SD		0.00	1.92

A2.3. Excision model_조직형태 계층학적 측정 결과

Excision model DAY3 (Rabbit 1)

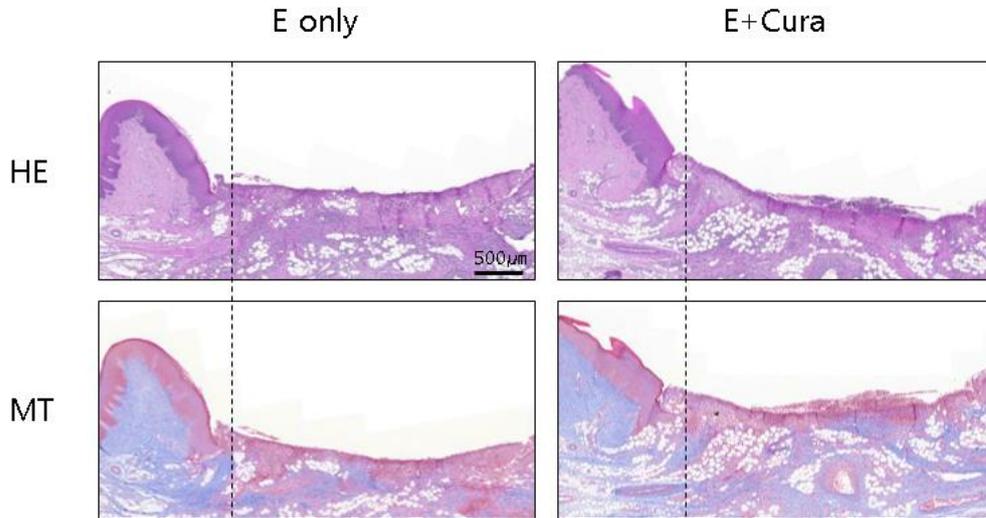


그림 30. 수술 후 3일째 희생된 토끼 1번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의한 손상으로 모든 군에서 상피손실 및 피하조직 손상이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 E only 군에서 3.48 mm, E+Cura 군에서 3.35 mm로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 15.64 %, E+Cura 군에서 12.31 %로 관찰됨.

Excision model DAY3 (Rabbit 2)

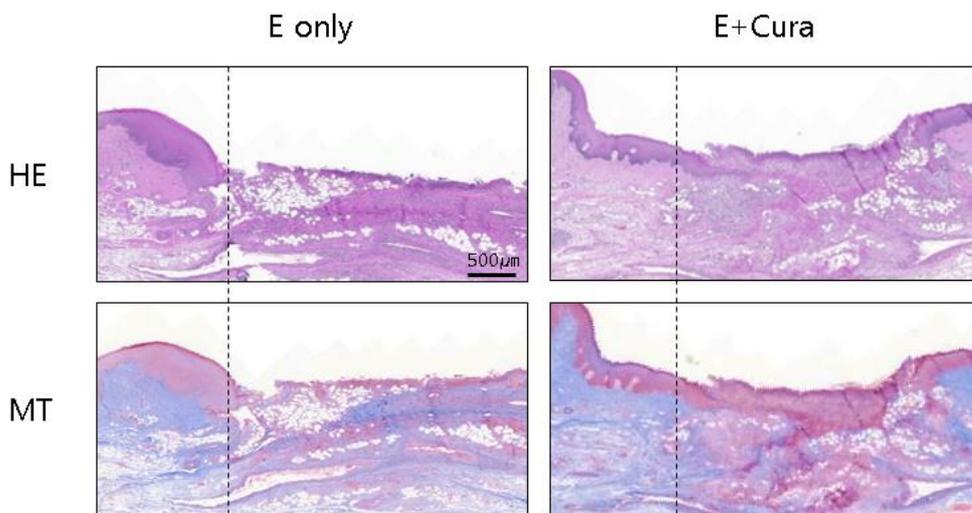


그림 31. 수술 후 3일째 희생된 토끼 2번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의한 손상으로 모든 군에서 상피손실 및 피하조직 손상이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 E only 군에서 3.21 mm, E+Cura 군에서 1.82 mm로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 17.03 %, E+Cura 군에서 12.32 %로 관찰됨.

Excision model DAY3 (Rabbit 3)

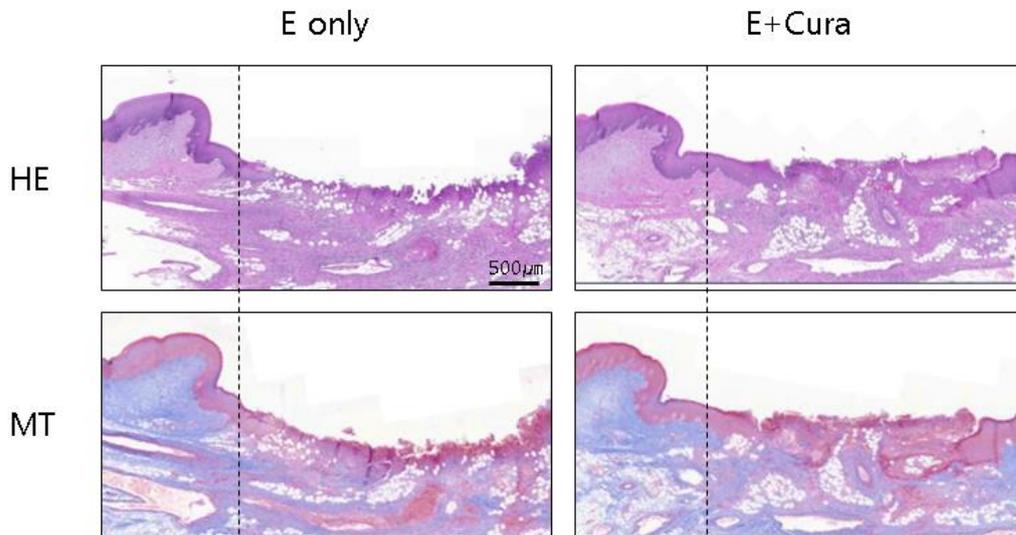


그림 32. 수술 후 3일째 희생된 토끼 3번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의한 손상으로 모든 군에서 상피손실 및 피하조직 손상이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 E only 군에서 3.21 mm, E+Cura 군에서 2.31 mm로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 10.47 %, E+Cura 군에서 14.04 %로 관찰됨.

Excision model DAY3 (Rabbit 4)

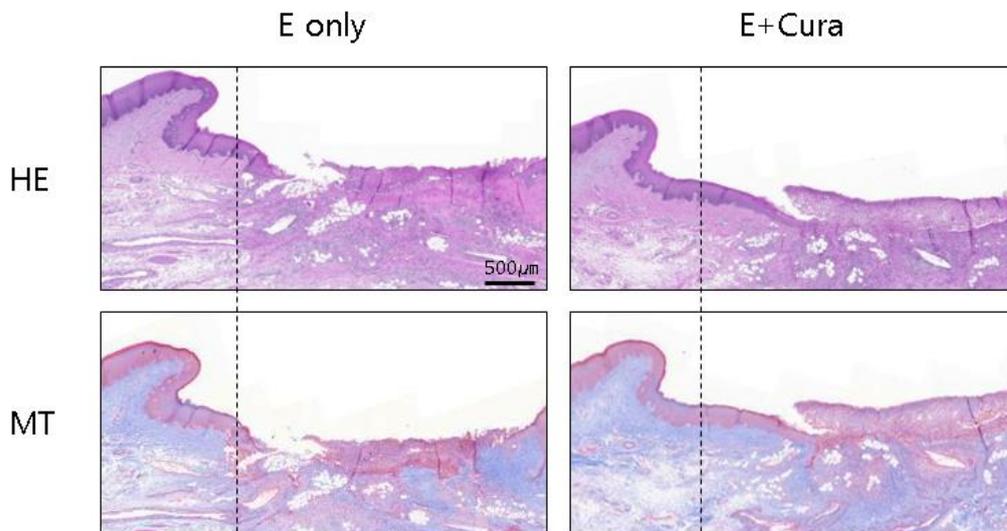


그림 33. 수술 후 3일째 희생된 토끼 4번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의한 손상으로 모든 군에서 상피손실 및 피하조직 손상이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 E only 군에서 2.86 mm, E+Cura 군에서 2.40 mm로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 19.60 %, E+Cura 군에서 21.89 %로 관찰됨.

Excision model DAY3 (Rabbit 5)

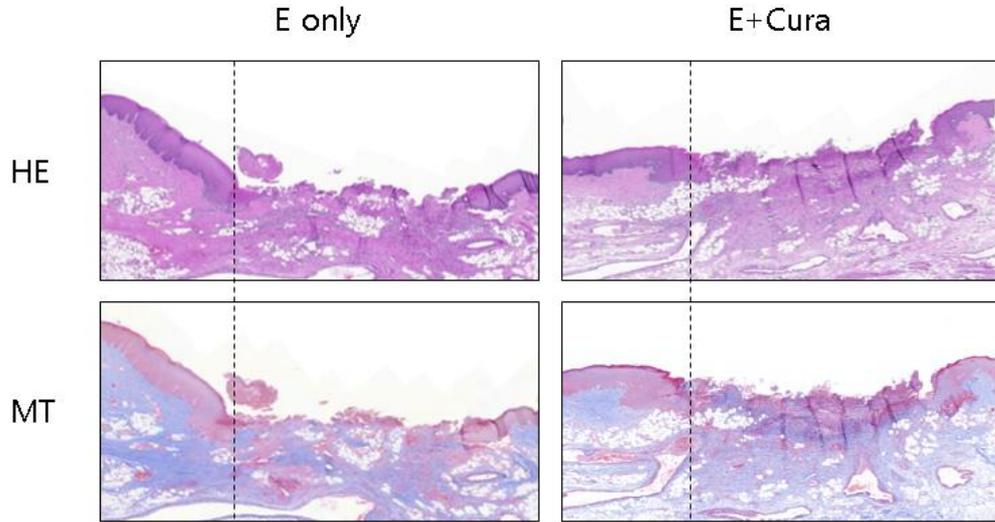


그림 34. 수술 후 3일째 희생된 토끼 5번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의한 손상으로 모든 군에서 상피손실 및 피하조직 손상이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 E only 군에서 2.98 mm, E+Cura 군에서 2.50 mm로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 14.07 %, E+Cura 군에서 50.73 %로 관찰됨.

Excision model DAY3 (Rabbit 6)

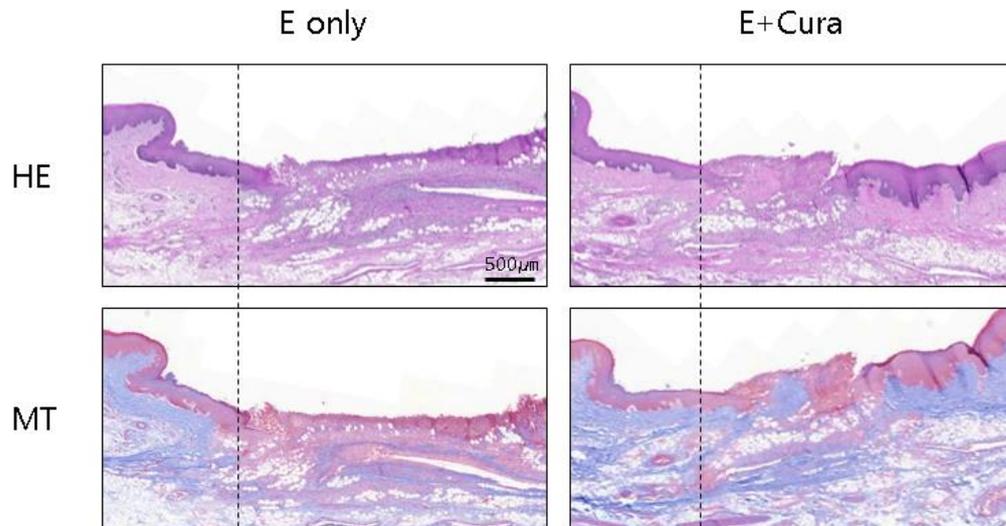


그림 35. 수술 후 3일째 희생된 토끼 6번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의한 손상으로 모든 군에서 상피손실 및 피하조직 손상이 관찰됨. 조직학적 계측을 통한 상피손실 길이는 E only 군에서 3.58 mm, E+Cura 군에서 1.51 mm로 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 12.79 %, E+Cura 군에서 18.97 %로 관찰됨.

Excision model DAY7 (Rabbit 7)

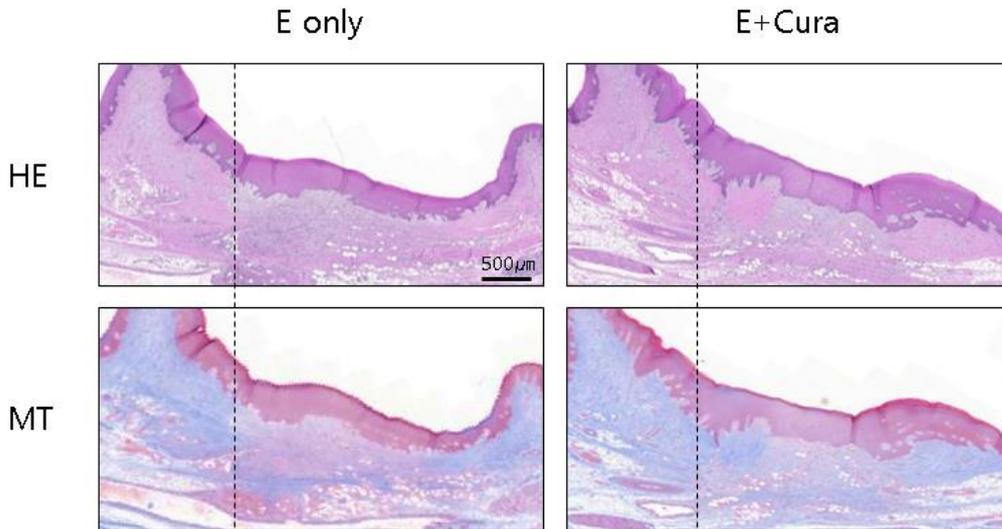


그림 36. 수술 후 7일째 희생된 토끼 7번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 16.67 %, E+Cura 군에서 24.78 %로 관찰됨.

Excision model DAY7 (Rabbit 8)

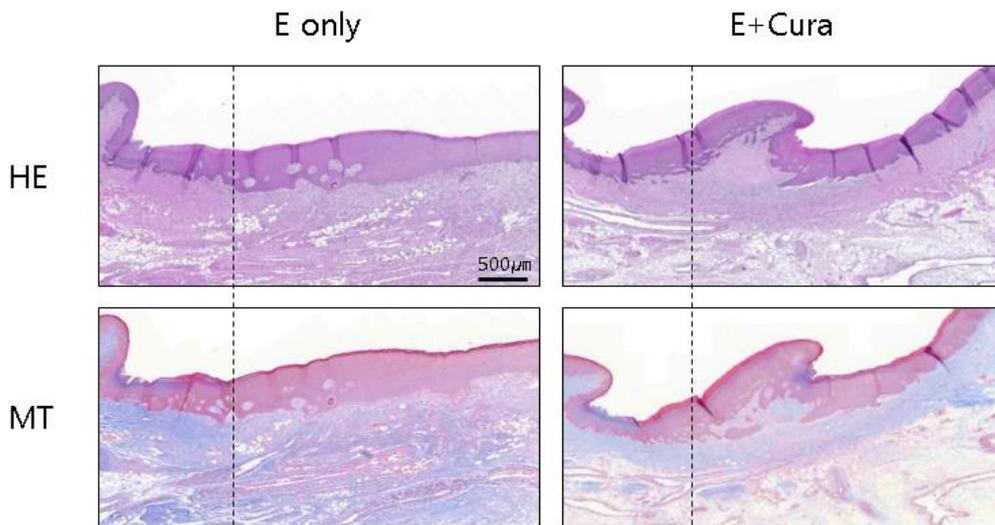


그림 37. 수술 후 7일째 희생된 토끼 8번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 17.91 %, E+Cura 군에서 25.19 %로 관찰됨.

Excision model DAY7 (Rabbit 9)

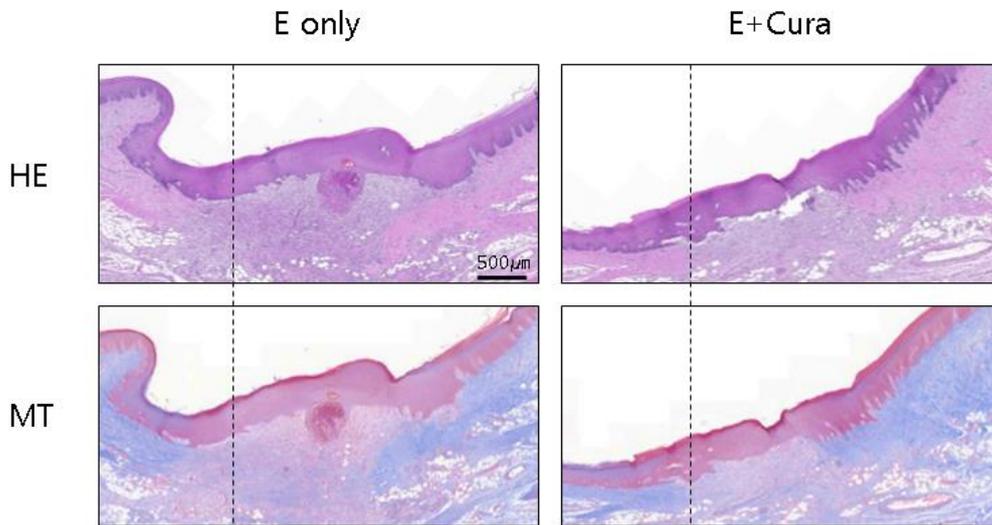


그림 38. 수술 후 7일째 희생된 토끼 9번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 15.05 %, E+Cura 군에서 24.43 %로 관찰됨.

Excision model DAY7 (Rabbit 10)

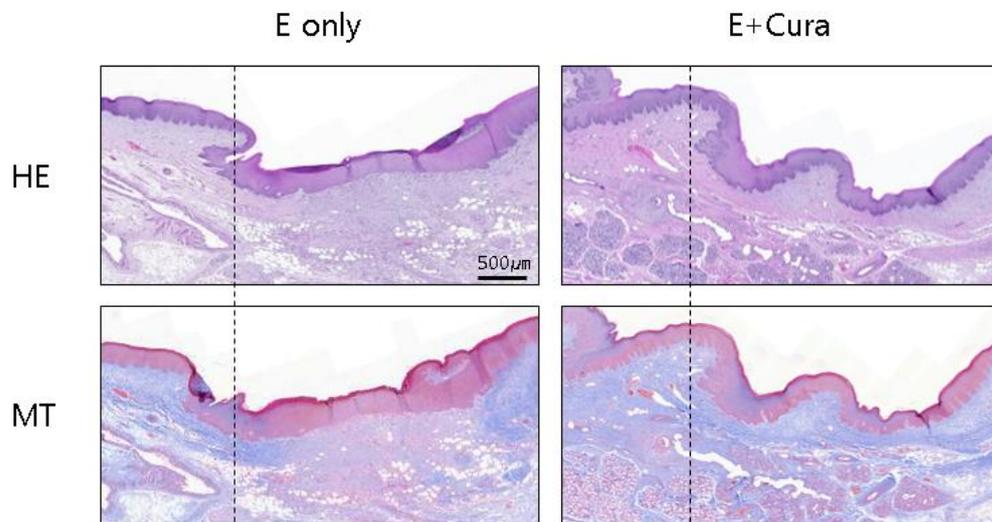


그림 39. 수술 후 7일째 희생된 토끼 10번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 22.62 %, E+Cura 군에서 24.36 %로 관찰됨.

Excision model DAY7 (Rabbit 11)

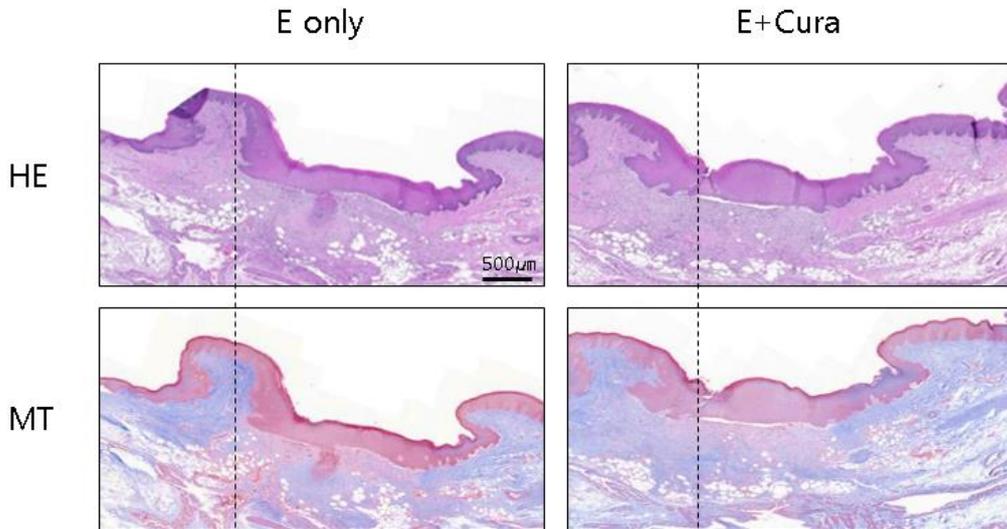


그림 40. 수술 후 7일째 희생된 토끼 11번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 20.37 %, E+Cura 군에서 24.12 %로 관찰됨.

Excision model DAY7 (Rabbit 12)

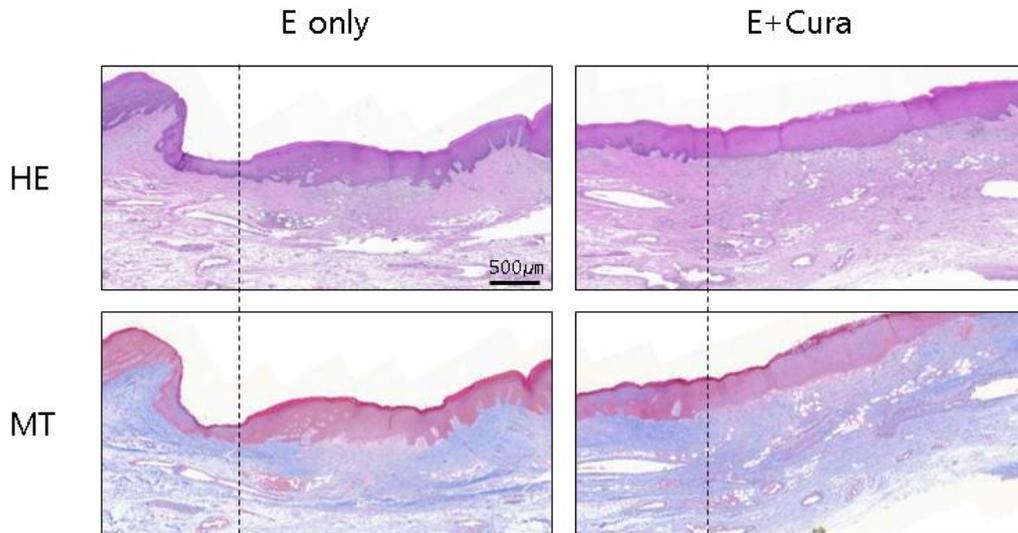


그림 41. 수술 후 7일째 희생된 토끼 12번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 24.09 %, E+Cura 군에서 15.33 %로 관찰됨.

Excision model DAY14 (Rabbit 13)

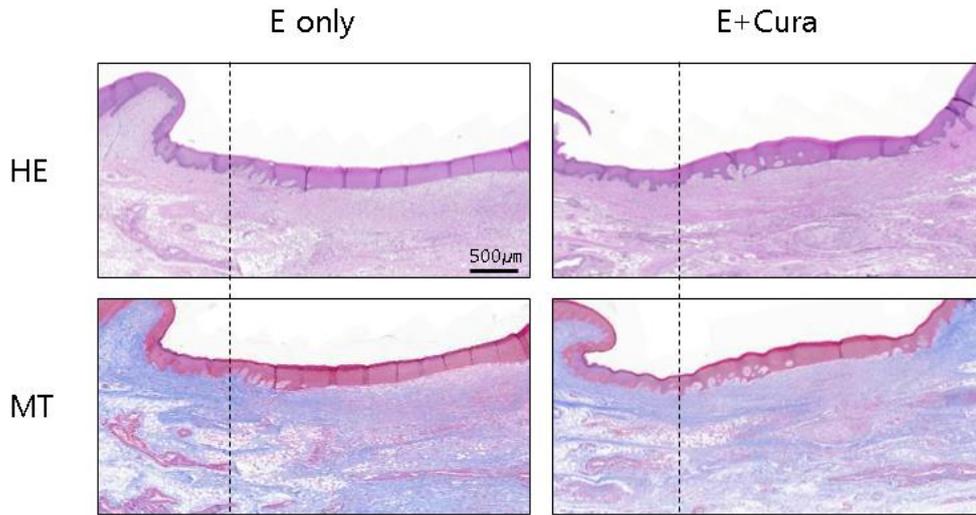


그림 42. 수술 후 14일째 희생된 토끼 13번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 19.27 %, E+Cura 군에서 26.75 %로 관찰됨.

Excision model DAY14 (Rabbit 14)

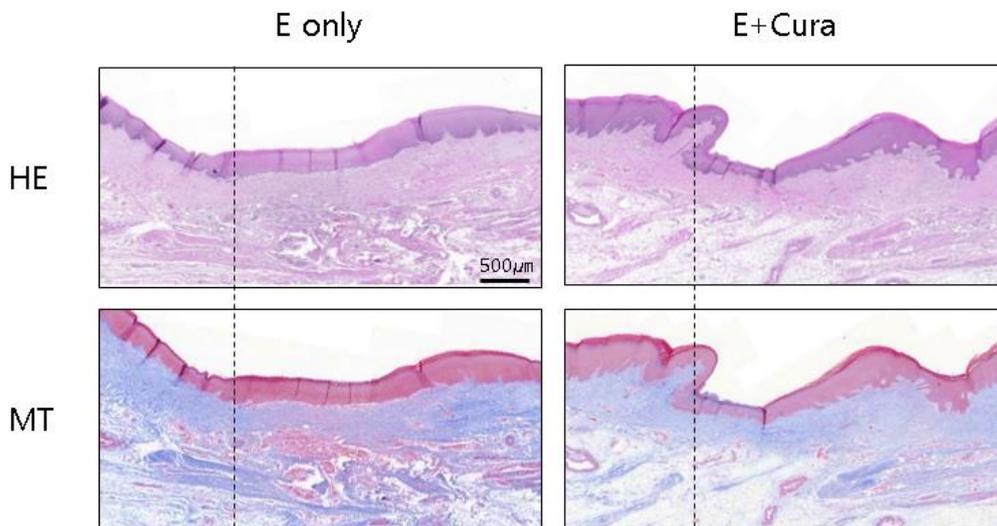


그림 43. 수술 후 14일째 희생된 토끼 14번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 18.90 %, E+Cura 군에서 31.22 %로 관찰됨.

Excision model DAY14 (Rabbit 15)

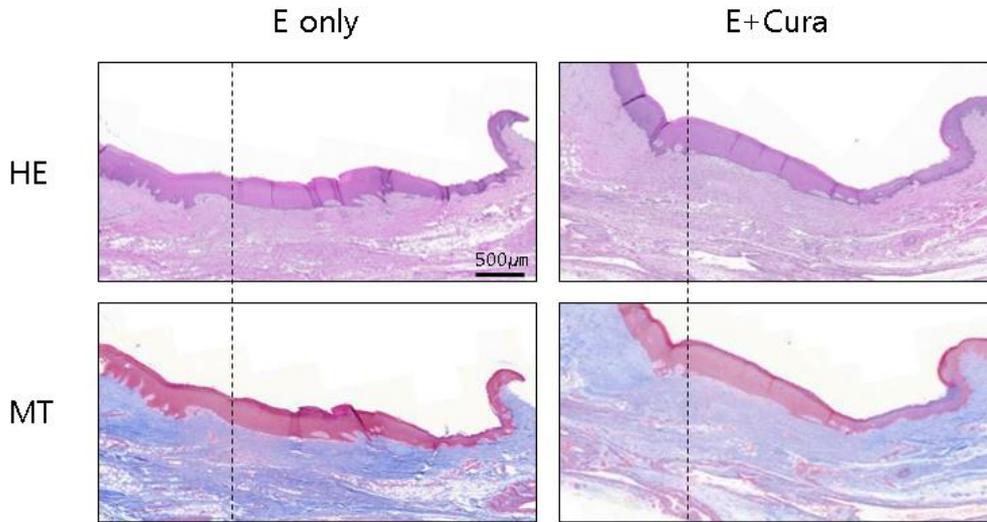


그림 44. 수술 후 14일째 희생된 토끼 15번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 21.41 %, E+Cura 군에서 29.65 %로 관찰됨.

Excision model DAY14 (Rabbit 16)

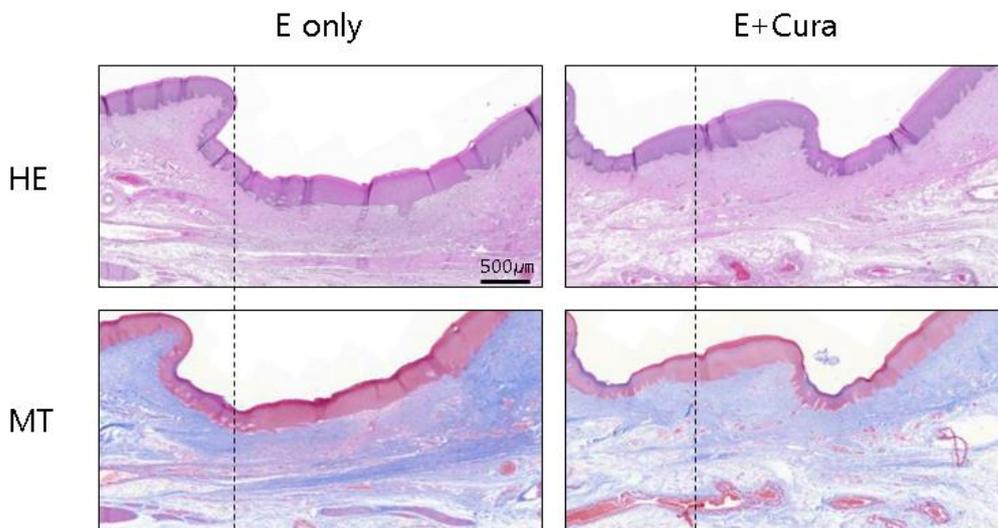


그림 45. 수술 후 14일째 희생된 토끼 16번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 24.61 %, E+Cura 군에서 29.35 %로 관찰됨.

Excision model DAY14 (Rabbit 17)

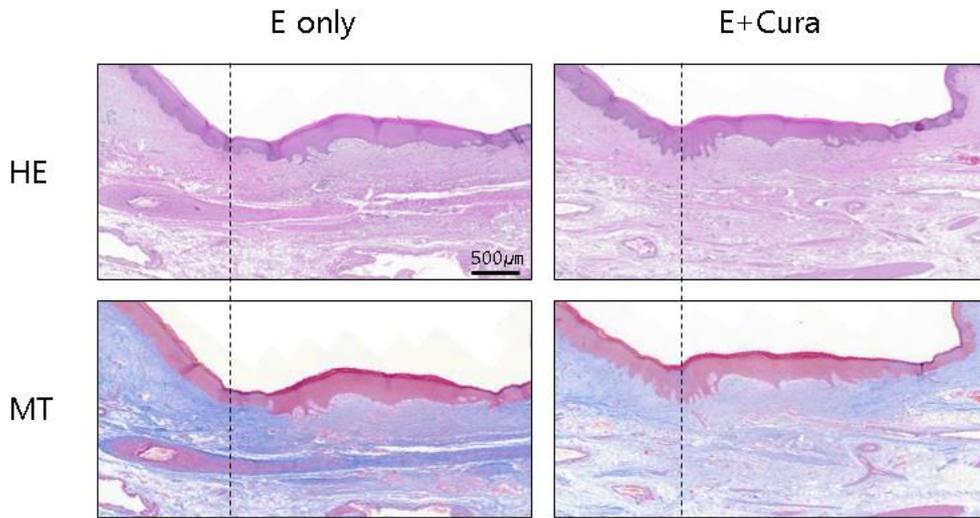


그림 46. 수술 후 14일째 희생된 토끼 17번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 22.81 %, E+Cura 군에서 31.88 %로 관찰됨.

Excision model DAY14 (Rabbit 18)

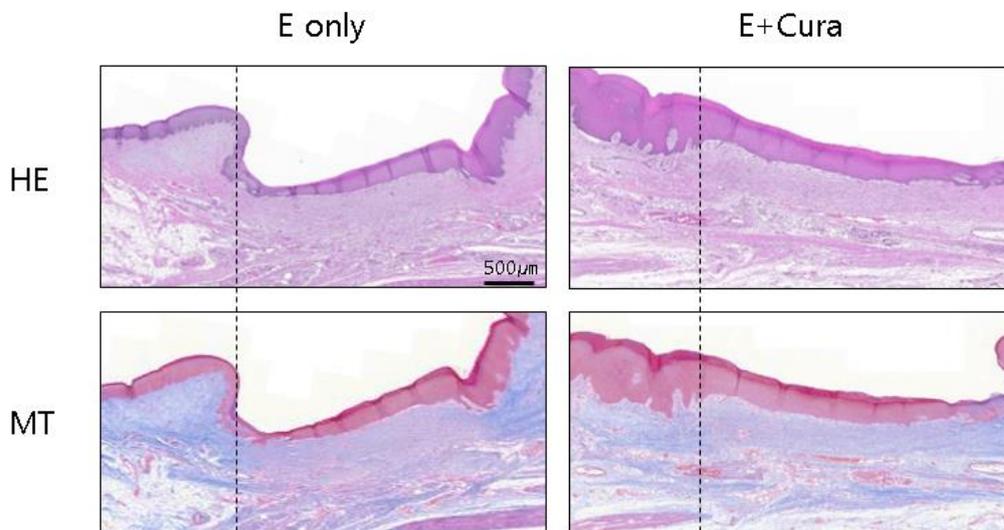


그림 47. 수술 후 14일째 희생된 토끼 18번의 Excision model 실험부위 조직 슬라이드에 대한 H&E 및 MT 염색 사진.

점선을 기준으로 왼쪽은 비손상부위, 오른쪽은 손상부위가 되도록 배치하였음. H&E 염색 조직 슬라이드에서 Biopsy punch에 의해 손상되었던 상피의 재생피화가 완전히 진행된 것이 관찰됨. MT 염색 조직 슬라이드에서 조직학적 손상부위 중 콜라겐이 차지하는 면적은 E only 군에서 22.37 %, E+Cura 군에서 28.03 %로 관찰됨.