

R-3. Blasting과 알칼리-열 처리된 타이타늄 표면이 골아 유사세포의 활성화에 미치는 영향

이덕혜, 박진우, 이재목, 서조영

경북대학교 치과대학 치주과학교실

I. 연구배경

타이타늄은 뛰어난 물리적 강도와 높은 생체적합성을 지님으로써 최근 치과 영역과 정형외과 분야에 서 가장 각광 받고 있는 임플란트 재료라고 할 수 있다. 임플란트는 금속과 골 사이에 직접적인 골융합 이 일어남으로써 골 내에서 강력한 고정체로 작용할 수 있게 된다. 또한 임플란트의 표면 상태가 골융합 의 정도에 상당한 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 임플란트 표면의 다양한 처리 방법에 따라서 임 플란트 주위의 골 형성에도 상당한 차이가 있음이 알려져 있다.

임플란트 표면을 물리적으로 처리하는 방법으로는 Surface machining, sandblasting, plasma spraying 등이 있으며, 임플란트 표면에 다양한 bioactive material로 덮이도록 처리하기 위한 여러 가지 화학적 처 리 방법으로는 acid etching, anodizing, HA coating, 알칼리 처리 등의 방법이 있다.

타이타늄 표면의 blasting 처리는 타이타늄의 표면 거칠기를 증가시켜 표면적을 넓힘으로써, 세포의 증식과 분화를 증가시켜 임플란트와 조직 표면에서 골기질의 골아세포 표현형의 표식인자 발현과 골기 질의 형성, 침착 및 골화가 뒤따르게 되며 특히 생체실험에서 골융합을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 타이타늄 표면을 NaOH로 알칼리 처리할 경우 alkali titanate layer가 형성되어, 세포 대사에 의해 초래되 는 산의 방출을 막아줌으로써 알칼리 상태의 환경을 만들어주어 골아세포의 증식이 증가되며, 알칼리 처리 후 다시 열처리를 할 경우에는 알칼리 처리만 한 경우 보다 더욱 안정된 titanate layer가 형성되어 apatite nuclei의 형성이 촉진된다고 보고 되었다. 여기에 주위의 체액으로부터 calcium과 phosphate 이 온이 유입되어 apatite layer가 형성되어 결과적으로 골아세포의 분화 및 성장이 향상되어지는 것으로 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 타이타늄 표면에 기계적으로 blasting 처리를 하고, 화학적으로 알칼리 처리를 한 경우에 골아세포의 활성화에 미치는 영향에 대해 알아보려고 하였다.

II. 연구방법 및 재료

1. 세포 배양

조골유사세포인 rat osteosarcoma cell로부터 유래한 ROS 17/2.8 cell line을 실험에 사용하였다.

2. 시편의 준비

실험군은 다음의 방법으로 분류한다.

Control : commercially pure titanium (Grade 2)

Group 1 : 약 100um 크기의 Ca-P 입자로 Blasting한 군

Group 2 : 5N NaOH로 알칼리 처리후 열 처리한 군

Group 3 : 약 100um 크기의 Ca-P 입자로 Blasting한 후 5N NaOH로 알칼리 처리후 열 처리한 군

3. 표면 형태 관찰 및 표면조도와 구조 분석

SEM으로 표면 형태를 관찰하였고 표면 조도와 구조를 분석하였다.

4. MTT assay

각군의 세포활성을 알아보기 위하여 MTT assay를 시행하였다.

5. 유사조골세포의 부착 및 전개 양상 관찰

24 well plate에 10x10x1mm³ 크기의 각군의 시편을 시적하고 rat osteosarcoma cell로 부터 유래한 ROS 17/2.8 세포를 접종한 후 1, 3, 24시간 후 고정하여 세포의 부착 및 전개양상을 SEM으로 관찰 하였다.

6. 골기질 단백질 유전자 발현 양상관찰

Northern blot을 이용하여 골기질 단백질 유전자 발현 양상을 관찰하였다.

결과

1. 타이타늄의 표면 처리 방법에 따라 표면 형태가 다양하게 나타났으며, blasting을 시행한 군에서는 다양한 크기의 편평한 면 사이사이에 작은 함몰 부위들이 관찰되었으며 알칼리-열 처리한 군에서는 원래의 표면 형태를 유지하면서 미세한 다공성 과 골 소주와 유사한 양상을 나타내었다.
2. 표면조도 측정에 있어서는 대조군에 비해 blasting을 시행한 군에서 조도가 증가하였으나, 알칼리-열처리의 시행은 표면조도에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.
3. 표면 구조의 변화를 관찰하기위하여 X-ray diffraction 분석한 결과 알칼리-열처리를 시행한 두군 공히 anatase와 rutile의 구조를 관찰할 수 있었다.
4. 1, 4, 7일 간 세포활성도 측정한 실험에서는 4군 모두 공히 시간이 증가함에 따라 세포의 활성도가 증가하는 양상을 나타냄으로써 세포에 대한 독성은 나타내지 않는 것으로 사료된다.
5. 주사전자 현미경을 이용하여 유사조골세포의 부착 및 전개 양상을 관찰한 결과 4군 간의 큰 차이를 발견할 수 없었다.
6. 골기질 단백질 유전자 발현 양상을 관찰한 실험에서는 osteopontin의 발현 양상이 표면처리 방법에 따라 다르게 나타났으며, 알칼리-열 처리 군에서 약간 증가된 양상을 나타내었다.