기계적 표면 처리된 TITANIUM PLASMA SPRAYED IMPLANT에 대한 치은섬유아세포전개양상의 형태학적 관찰

황연희 · 이재목 · 서조영

경북대학교 치과대학 치주과학교실

Ⅰ. 서 론

다양한 디자인의 골막하임프란트, 골내임프란트(치근형 골내임프란트)등의 치료술식이 구강내 완전 무치악 및 부분 무치악 그리고 안면부의 수복에 사용되어지고 있으며 통상적인 의치로 수복이 불가능한 경우에 성공적인 치료방법으로 받아들여지고있다[1-6]. 현재 타이타늄, 수산화인회석, 산화알루미늄 그리고 single crystal sapphaine 등이 치과영역의 임프란트 재료로서 주로 사용되고 있으나 순수타이타늄이 우수한 기계적성질, 부식저항성 그리고 뛰어난 생체적합성으로 가장 널리 사용되고 있다[3,4].

타이타늄의 생체적합성은 공기와 접하게 되면서 순간적으로 형성되는 안정된 산화막에 의한 것으로 이 산화막이 생체와 이루는 계면에서 골유착에 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려지고 있으며[7-12], 임프란트의 산화막과 접촉하는 생체조직은 상피부착, 결체조직의 연조직계면과 골유착이 이루어지는 골조직 계면으로 나누어 볼 수 있다[3,11].

매식후 구강내에서 성공적인 기능수행을 위해서는 임프란트가 악골에 정교하게 장착되어 초기안정성을 얻는 것이 중요하고 일정기간동안 부하를 받지않아 완전한 골유착이 이루어져야 하며 연조직계면이 건강하게 유지되어야 한다고 알려지고 있으며, 이러한 연조직계면은 임프란트의 장기적인 예후를 고려할 때 중요하게 받아들여지고 있다[3,11,13].

그러나 Lekholm등[14]은 임프란트도 세균에 의한 염증성 질환, 즉 매식치주위염을 유발하게 되어 치은염증, 접합상피와 치주낭상피의 증식, 치조골소실등이 관찰되며 임프란트 주위의 세균들은 자연치 주위조직에서 관찰되는 세균들과 형태와 분포가 유사하다고 하였고 Hickey등[15], Lindhe등[16]도 임프란트에서 세균에 의한 연조직의 염증을 보고한 바 있다.

Parham등[17]은 임프란트의 골조직 접합을 증가시키기 위한 다공성 또는 여러종류의 물질로 피막된 매식체표면이 노출되면 치태침착을 가속화시키며 세균독소제거를 어렵게 한다고 하였고, Könönen등[11]은 임프란트의 거친 표면이 조골세포의 부착에는 적절하지만 매식치주위염에 더욱 민감하며 염증세포를 유인할 수 있다고 하여 임프란트와 연조직 접촉부위에서 임프란트 표면을 평활하게 하는 것이 중요하다고 하였으며, 유등[1]에 의하면 Titanium plasma sprayed(이하 TPS로 명기)의 표면조도측정시 24.43μm으로 나타나며 평활한 타이타늄면은 3μm이라고 보고하였다. 이런 경우 손상된 조직회복을 위한 임프란트 표면처치방법으로 Fox등[18]은 임프란트표면에 타이타늄큐렛, 스테인레스

스틸큐렛, 플라스틱큐렛 처치후 표면조도 비교시 플라스틱큐렛이 가장 미약한 표면손상을 나타내었다고 보고하였으며, Barnes등[19]은 air abrasive polishing한 경우 임프란트의 표면구조에 거의 변화가 없었다고 하여 치태제거에 air abrasive polishing을 추천하였고, Block등[20]은 손상된 임프란트 매식체를 Nd : YAG laser로 처치한 경우 금속의 용융과 표면구조의 변화가 관찰된다고 하였으며, 유등[1]과 양등[2]은 여러가지 기계적인 표면처치방법이 거친 타이타늄 표면을 평활하게 하는데 효과적이었다고 보고하였다.

타이타늄에 대한 치은섬유아세포의 부착 및 전개에 대한 연구로는 Guy등[21]은 순수타이타늄이 다공성과 비다공성 hydroxyapatite(이하 HA로 명기)에 비해 치은섬유아세포의 부착에 적절하며 fibronectin의 도포는 세포 부착의 증가를 가져오지 않았다고 하였고, 최등[3]은 결합조직섬유의 임프란트 부착을 증진시키기 위한 목적으로 원판의 타이타늄에 여러가지 단백질을 도포해 본 결과 fibronectin이 치은섬유아세포의 부착을 증진시킨다고 보고하여 fibronectin 도포에 있어서 상반된 견해를 보였다.

이상의 표면처치방법은 세균독소제거에는 효과적이라 볼 수 있으나 임프란트 표면에 손상을 가해 세포의 부착이 감소하거나 그러한 표면손상으로 오히려 치태침착을 증가시킬 수 있고 유등[1], 양등[2]의 실험에서 기계적 표면처치방법이 평활한 면을 얻는데 효과적이었으나 이러한 방법으로 인한 표면성분의 변화가 세포의 반응에 미치는 영향을 알 수 없었던 바, 이에 본 연구에서는 TPS 임프란트의 평활한 면을 얻기위해 기계적인 표면처리방법으로서 low speed stone bur와 비교적 안전하게 세균독소를 제거하는 것으로 알려진 air abrasive system을 이용하여 TPS를 제거한 후 처치된 임프란트 표면성분과 이러한 임프란트에서의 치은섬유아세포의 전개양상을 관찰하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 기구

실험재료로는 직경 10mm, 두께 2mm인 원판형 타이타늄(Friedrichsfeld사, 독일)을 사용하였다. 삭제기구로는 composite polishing kit (Shofu사, 일본)내의 stone을 사용하였고 연마기구로는 composite polishing kit(Shofu사, 일본)내의 rubber point와 Jetpolisher(Dedent사, 이스라엘)를 사용하였다.

2. 실험방법

1) 시편 제작

원판형 타이타늄을 이용하여 대조군은 제조회사에서 제작된 피막되지 않은 타이타늄면과 TPS한 면으로 하였고, 실험군은 기계적인 표면처리방법으로써 low speed stone bur로 처치하고 rubber polishing, jetpolisher를 사용한 군으로 하였다.

Low speed stone bur는 육안으로 TPS가 없어질때 까지 사용하였고, rubberpoint와 jetpolisher는 각 30초 동안 사용하였다.

2) 표면성분 분석

처리된 시편의 표면성분변화 관찰을 위해 Energy dispersive X-ray spectroscopy(이하 EDX로 표기, AN-1000, Link사, 영국)를 사용하여 시편에 전자선을 조사하여 반사되는 특정 전자선을 broad range energy dispersive detector로 분석하였다.

3) 치은섬유아세포의 배양

교정 치료를 목적으로 경북대학교 병원에 내원한 환자의 제 1 소구치 부위의 정상 치은을 절제해 낸 다음 서등[22]의(1991) 방법으로 배양하였다.

세절된 치은조직으로부터 치은섬유아세포가 자라나와 배양접시를 완전히 피개하는 단층밀생이 형성된 후 0.05% trypsin/0.02% EDTA를 이용하여 세포를 채취한 후 100mm세포 배양용 접시를 이용하여 1 : 3 계대배양하였다. 본 실험에서는 6세대의 치은섬유아세포를 사용하였다.

4) 세포부착후 주사전자현미경 관찰

각 군의 원판 타이타늄을 관찰할 시간에 따라 다시 3군으로 나누어 24well 조직배양기에 넣은 후 각각의 조직배양기에 ml당 3×104개의 치은섬유아세포를 가진 배양액 1ml씩을 넣어 동일한 조건 하에서 배양하였다.

세포배양 개시후 30분, 6시간, 24시간에 배양액을 제거하고 시편과 함께 인산완충생리식염수로 세척한 다음 2.5% glutaraldehyde(0.1 M 인산 완충액, pH7.4)에서 고정하고난 후 고정액을 제거하고 0.1M 인산완충생리식염수로 5회 세척하였으며 1% osmium tetraoxide(0.1M 인산완충액, pH7.4)에서 후고정한 다음 인산완충생리식염수로 세척하고 2% tannic acid (0.1M 인산완충액, pH7.4)로 처리한 다음 순차적으로 에틸알콜로 탈수하고 임계점건조기를 이용하여 임계점온도로 건조시키고 ion coater를 이용하여 금으로 피복시킨 후 주사전자현미경(Model S-2300, Hitachi사, 일본)을 이용하여 20kv의 조건하에서 세포전개양상을 관찰하였다.

III. 성 적

1. 표면성분 분석

EDX에 의한 표면성분 분석 결과 평활한 타이타늄군과 TPS군에서 titanium peak와 소량의 aluminum이 나타났고 Stone처치군에서도 비슷한 titanium peak와 극소량의 aluminum이 나타났다. 모든 실험군에서 titanium, aluminium이외의 성분은 나타나지 않았다.

2. 치은섬유아세포의 주사전자현미경 관찰 소견

시편표면을 주사전자현미경으로 관찰한 결과 제조회사에서 제작한 평활한 타이타늄면은 가공시 형성된 평행한 선들이 보였으며 Stone처치군의 표면은 거친 TPS가 제거되었으나 다소 잔존한 양상을 볼 수 있었고 TPS면은 불규칙하게 거친 TPS의 모습이 관찰되어 각군의 시편표면양상이 다르게 나타났다. 배양 30분후 치은섬유아세포의 전개양상을 관찰한 결과 평활한 타이타늄면에서 구형의 치은섬유아세포는 시편측의 세포질이 박판엽상으로 확장되거나 세사상돌기를 내어 초기부착하는 양상을 보이며 세포표면은 소기포로 덮혀 있었다(Fig. 2). stone처치군에서는 평활한 타이타늄면과 유사하나 세사상돌기가 보다 적게 관찰되었으며 (Fig. 5) TPS의 치은섬유아세포는 박판상돌기나 세사상돌기를 관찰할 수 없었으며 시편의 거친 표면으로 인해 구별이 어려웠고 초기부착양상을 찾아볼 수 없었다(Fig. 8).

배양 6시간후 치은섬유아세포는 평활한 타이타늄, stone처치군에서 공히 신장된 외형을

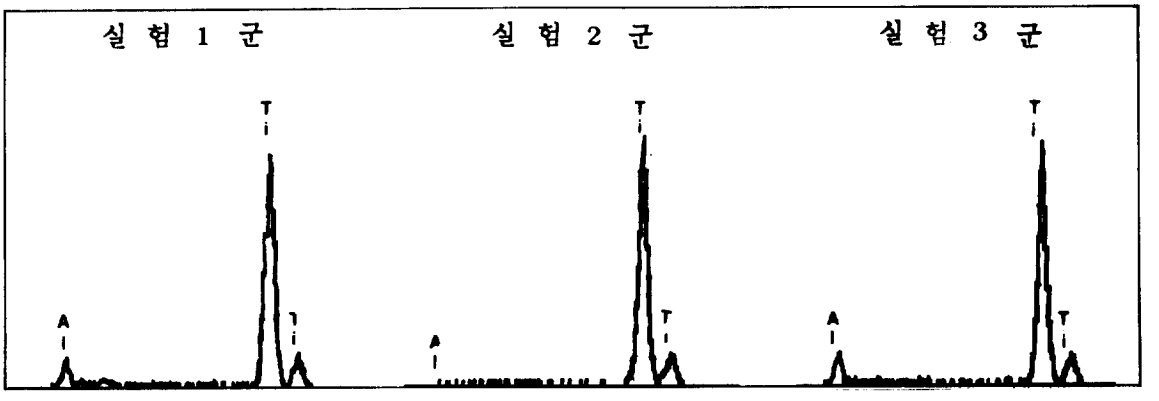


Fig. 1. The EDX Spectra of Experimental groups
T : 평활한 타이타늄면 ST : Stone 처치한 타이타늄면
TPS : Titanium plasma 피복된 타이타늄면
Al : Alumium Ti : Titanium

보이면서 편평하게 부착되었고 서로 돌기를 내어 인접한 세포와 연결된 양상을 보이나 일정한 방향성은 보이지 않았다. 평활한 타이타늄군에서 세포가 시편에 밀접하게 부착된 반면 stone처치군의 치은섬유아세포는 TPS가 남아 있는 거친 부분에서 밀착되지 못하고 돌기가 돌출되어 부착되는 모습을 보였다(Fig. 3, 6). TPS군에서는 약간 신장된 치은섬유아세포에서 말단부가 팽대한 가늘고 긴 박판상 돌기가 나와 부착된 양상을 보였다(Fig. 9).

배양 24시간후 평활한 타이타늄과 stone처치군에서는 극성화가 두드러지게 나타나며 길게 신장된 치은섬유아세포는 시편의 거의 모든 면을 피개하였으며 세사상돌기를 내어 서로 연결된 양상을 보였으나 배양 후 6시간의 소견과 마찬가지로 stone군에서 시편에 완전히 밀착되지 않았다. 평활한 타이타늄군에서는 치은섬유아세포들이 가공시 형성된 평행한 선들을 따라 저명하게 방향성을 보이며 부착, 전개하였다(Fig. 4, 7). TPS군의 치은섬유아세포는 시편 표면에 밀착되지 못하고 별모양으로 박판상돌기가 길게 돌출되어 여러 면에 부착된 양상을 보이며 방향성은 볼 수 없었고 평활한 타이타늄, stone군에 비해 세포가 부착되지 못한 부위가 많이 보였다(Fig. 10).

모든 실험군에서 치은섬유아세포는 부착 초기에 핵을 포함하는 구형태를 보이나 시간이 경과함에 따라 구형을 이루던 핵부분이 납작하게 변하여 세포질에서 구분이 되지 않으며 세포질 표면에서 불규칙한 형태의 돌기들이 뻗어나와 이웃한 세포들과 연결되었다.

Ⅳ. 고 찰

통상적으로 순수타이타늄이 치과용 임프란트의 금속성 재료로써 가장 성공적으로 사용되어왔으며[10,23], 이는 임프란트의 안정된 산화막으로 인한 부식저항성과 생체적합성에 의한 것으로서 생체조직과 접하는 임프란트계면은 TiO_2로 구성되어있고, 이와 결합하는 조직계면은 상피부착, 결체조직의 연조직계면 그리고 골조직계면을 가진다고 보고되고 있다[11,21].

Guy등[21]은 매식된 임프란트가 성공적으로 구강내에서 유지되기 위해서는 골조직과의 계면에서 골유착이 일어나야하며 골조직내 임프란트와 구강내를 연결하는 연조직계면의 밀접한 부착이 이루어져야한다고 하였다.

상악골은 피질골로 이루어진 하악골과는 달리 후방부의 대부분이 망상골로 구성되어 골조직-임프란트 접촉율이 낮은 관계로 하악에 비해 낮은 성공율이 보고되고 있어 골조직내 임프란트의 접합을 개선하기 위하여 다공성 또는 여러종류의 피막물질에 대한 연구가 이루어져 1970년 Hahn과 Palich[24]에 의해 plasma-sprayed된 방법으로 피막처리된 임프란트가 소개된 이후, 최근에는 HA 피막처리방법 또한 많이 이용되고 있으며 sandblasting, 산처리된 임프란트에 대한 연구도 진행되고 있다[5,17].

그러나 많은 연구에서 성공적인 골유착이 일어났다고 하더라도 치은조직의 효과적인 부착이 이루어지지 못하면 임프란트의 장기적인 예후는 좋지 않은 것으로 보고되고 있다[3,21].

그러므로, 임프란트의 장기적인 성공의 첫째 결정조건은 구강내로 돌출된 임프란트 부위에 자연치에서와 유사한 치은조직을 형성하는 생체조직의 능력이라 할 수 있고[25], 임프란트와 치태와의 상관관계는 완전히 밝혀지지 않았지만 Hickey등[15]은 골유착된 임프란트에서도 세균에 의한 염증성 병변이 생기며 이러한 염증에 의한 골흡수가 발견된다고 하였고, Lindhe등[16]도 자연치에서 보다 임프란트에서 세균에 의한 염증의 정도가 심하다고 보고한 바 있어 직접적, 간접적으로 세균의 조절, 즉 치태의 관리가 임프란트의 장기적 성공에 중요한 요소라 생각된다.

임프란트 주위에 병적인 골소실이 생긴 경우 임프란트 매식체는 구강내 세균에 노출되므로 골유착을 높이기 위해 사용된 TPS, HA 피막된 면은 그 거친 면으로 인하여 치태침착을 가속화시킨다고 하였으며[10] 이러한 노출된 거친 표면은 결체조직에 의한 치유보다는 탐식세포를 유도해 염증을 유발한다고 하였다[23]. 그러므로 구강내 노출된 임프란트를 건강한 상태로 유지하기 위해서는 주위 연조직, 경조직에 생리

적으로 적합한 표면상태로 처치해 주어야 한다고 사료된다.

Zablotsky등[26]은 실패한 HA 피막 처리된 임프란트에 구연산 처리시 세균독소가 제거되나 3분간 적용시 HA 피막 두께가 감소됨을 보고하였고, Parham등[17] 은 TPS 임프란트 표면에 air abrasive system을 적용한 실험에서 표면구조에 미약한 변화가 보이나 세균독소는 완전히 제거되며 치은섬유아세포의 부착에는 차이가 없었다고 하였다. 그러나 TPS 또는 HA 피막 처리된 임프란트의 거친 표면이 구강내로 노출된 경우에는 구연산이나 air abrasive system을 이용한 표면처치방법들은 세균독소제거에는 효과적이나 매식체의 거친 표면을 제거하기는 어려우므로 계속적인 치태침착을 야기하며 염증을 진행시킬 것으로 사료되어 본 실험에서는 평활한 면을 얻기 위해 기계적인 방법으로 타이타늄 표면을 처치한 후 표면성분 변화 및 치은섬유아세포의 전개양상에 미치는 영향을 알아 보고자 하였다.

TPS를 제거하기 위한 삭제기구로는 low speed stone을 사용하였고 stone bur에 의해 형성된 거친 표면을 연마하기 위해 rubber point를 사용하였으며 세균독소제거를 위해 air abrasive system의 일종인 Jetpolisher를 각 실험군에 사용한후 표면성분을 분석한 결과 모든 실험군에서 titanium peak와 소량의 aluminum이 존재하였으며, 그 외의 성분은 관찰되지 않았고 stone bur처치시 aluminum이 약간 감소한 것 이외 각 군 모두 표면성분변화가 없는 것으로 나타났다. 이는 Könönen등[11]의 electropolishing titanium면에서 탄소, 칼슘의 불순물이 관찰된 보고와 Kasemo등[27]의 진공상태에서 타이타늄 표면 처리한 경우 타이타늄, 산소이외 성분은 보이지 않으나 고압멸균시 칼슘, 탄소, 질소등이 보이고 고압멸균시 변색된 경우 특색적으로 불소가 관찰된 실험결과와 상이하였던 바 시편처리방법의 차이에 의한 것으로 생각되어지고 기계적인 표면처리방법은 표면오염을 야기하지 않는 비교적 양호한 표면처치방법으로 사료되며, 각 군에 보인 aluminum은 타이타늄 원판의 제작과정 중의 혼입에 의한 것으로 보이며 Al_2O_3는 생체에 적합한 것으로 알려져있다[11].

치은섬유아세포는 치은결체조직세포의 65%를 차지하는 세포로써 조직손상시 치유과정에 많이 나타나며 치주조직재생을 위하여는 치은섬유아세포가 치근표면에 부착하여 교원질을 생성해야 하며 생성된 신생교원섬유는 역으로 치은섬유아세포에 화학주성을 가져서 다시 세포의 부착을 유도한다고 알려지고있다[28]. 임프란트는 자연치아와 마찬가지로 치조골 상방의 결체조직에 교원섬유가 존재하는 것으로 보고된 바 있고[29] Kurashina등[30]은 개실험에서 HA 임프란트에 대한 치은섬유의 부착을 관찰하여 상피조직과 결체조직으로 이루어진 치은접합기관이 형성된다고 하여 임프란트 장착 후 또는 임프란트주위염 처치 후 건강한 연조직계면 특히 결체조직계면을 형성하기 위하여는 치은섬유아세포가 먼저 임프란트에 부착하는 것이 중요하다고 보고하였다.

이에 각각의 시편에 대한 치은섬유아세포의 부착전개양상을 알아보기위해 세포접종 30분, 6시간, 24시간 후에 주사전자현미경관찰을 한 결과, 세포접종 30분후 평활한 타이타늄군의 시편에서 세사상돌기, 박판엽상으로 퍼진 세포가 더 많이 관찰되어 stone처치군보다 초기부착이 빠른 것을 알 수 있었다. 세포접종 6시간후의 소견에서, stone처치군에서는 잔존한 TPS의 거친면으로 인해 평활한 타이타늄군보다 치은섬유아세포가 시편에 밀착되지 못하는 것으로 보이나 24시간 후 소견에서는 두 실험군에서 모두 치은섬유아세포가 전면에 걸쳐 피개되어 있었으며 극성화를 보였다. 이에 비해 TPS군에서는 거친 면으로 인해 세포가 덜 신장된 모습을 보이면서 말단부가 팽대한 가늘고 긴 돌기로써 부착된 양상을 보였으며 24시간 후 소견에서도 세포가 부착되지 않은 면을 보였다.

표면처치 후 타이타늄 표면관찰에서 평활한 타이타늄군의 표면은 가공시 형성된 평행한 선들이 보이고 stone처치군은 거친 부분이 부분적으로 보여 완전히 TPS가 제거되지 않은 양상을 나타내었으며 TPS군은 거칠고 불규칙

하여 이러한 다양한 표면상태가 치은섬유아세포의 전개양상에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

본 실험의 결과는 TPS면에서 치은섬유아세포를 48시간 배양한 Parham등[17]의 실험결과에서 나타난 치은섬유아세포의 전개양상과 유사하였고, Könönen등[11]이 electropolishing한 면, 산부식면, sandblasting한 면에서 치은섬유아세포의 부착과 전개를 관찰한 바 평활하고 깨끗한 electropolishing한 면이 적절하였다고 한 결과와 Dmytryk등[31]의 타이타늄, 스테인레스 스틸, 플라스틱 큐렛으로 처치한 면에서 치은섬유아세포를 비교 관찰한 결과 표면손상이 가장 미약한 플라스틱 큐렛으로 처치한 면에서 세포의 부착이 많음을 보고한 것과 일치하였다.

치은섬유아세포는 거친 TPS면보다는 평활한 면에서 더 잘 부착 전개되었고 평활한 타이타늄면과 stone 처리면을 비교해 볼 때 stone처리면에서 시편에의 밀착도가 떨어지지만 거의 비슷하게 전개가 되어 시편의 모든 면에 부착되어 있었다. 그러므로 기계적인 처치방법이 지금까지 보고된 처치방법에 비해 세균에 감염된 TPS를 제거하면서 평활한 면을 얻는데 보다 더 효과적이며 타이타늄 표면성분의 변화가 거의 없어 치은섬유아세포의 부착과 전개에도 적절한 방법으로 사료된다.

이러한 결과를 토대로 기계적인 표면처치방법이 다양한 방법으로 처리된 임프란트의 거친 표면을 피막의 종류에 관계없이 평활하게 할 수 있을 것으로 사료되고 세균에 의해 질환이 유발된 임프란트주위염에서 임프란트의 치태조절이 용이하며, 더이상의 치주질환진행을 예방, 치료할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 임상에 적용시 잔존한 피막부로 인한 치태침착, 구치부 후방부위에서 시술시 접근이 용이하지 않은 점과 피막부 제거에 상당한 시간이 소요되는 등의 문제점을 해결하기위해 향후 타이타늄 표면처치의 방법론적 연구와 더불어 치은섬유아세포 및 조직재생에 관여하는 타세포의 부착과 전개를 촉진시킬 수 있는 약물의 개발과 도포방법등에 대한 연구가 필요하리라고 사료된다.

V. 요 약

구강내 매식된 임프란트가 과도한 교합력이나 염증등의 이유로 구강내로 노출되었을 때 세균독소에 이완된 면을 제거하고 평활한 면을 형성하여 주위의 연조직, 경조직에 적합한 상태로 만들어 건강한 상태로 구강내에 유지하기 위해서 임프란트 매식체 표면을 기계적인 표면처리방법으로 처치하여 이러한 방법이 임프란트 표면성분, 치은섬유아세포의 전개양상에 미치는 영향을 알아보고자 본 실험을 실행하였다.

IMZ사에서 제작한 직경 10mm, 높이 2mm의 원판 타이타늄을 이용하여 피막되지 않은 타이타늄면과 TPS면을 대조군으로 하고 기계적인 표면처리방법인 low speed stone bur처치면을 실험군으로 설정한 후 EDX로 타이타늄 표면성분을 분석하였고 주사전자현미경으로 치은섬유아세포의 전개양상을 관찰하였다.

EDX에 의한 타이타늄 표면성분분석 결과 모든 실험군에서 titanium peak, 소량의 aluminum이 나타났으며 그외의 성분은 나타나지 않았다.

치은섬유아세포의 전개양상에 대한 주사전자현미경 관찰결과 평활한 타이타늄면에서 접종 30분 후 세사상돌기와 박판엽상으로 확장된 세포가 많이 관찰되며 6시간 후 신장된 치은섬유아세포가 시편에 밀착된 양상을 보였고 24시간 후 치은섬유아세포는 시편의 모든 면을 피개하며 가공시의 평행한 선을 따라 방향성을 띄었다.

TPS가 잔존한 stone처치군에서 세포 접종 30분 후 세사상돌기가 적게 관찰되어 평활한 타이타늄면에 비해 초기부착이 늦은 것을 알 수 있었고 6, 24시간후 치은섬유아세포는 거친면으로 인해 시편에 밀착되지 못한 양상을 보였으나 평활한 타이타늄면과 유사하게 세사상돌기로써 인접한 세포와 연결되며 시편의 모든 면을 피개하였다.

TPS군에서 치은섬유아세포는 세포 접종 30분후 세사상돌기를 거의 찾아 볼 수 없어 초기부착이 다른군에 비해 늦으며 세포배양 6,

24시간후에도 시편에 밀착되지 못하고 박판상 돌기가 가늘고 길게 돌출되어 여러면에 부착된 양상을 보였으며 세포가 부착되지 않은 TPS면이 관찰되었다.

참고문헌

1. 유현석, 박재완, 서조영 : Titanium plasma sprayed implant에 관한 여러가지 기계적 표면처리방법이 implant 표면조도에 미치는 영향, 대한치주 과학회지, 23 : 493-506, 1993.
2. 양경란, 정오철, 이재목, 서조영 : Hydroxyapatite 피막 처리된 임프란트에 대한 여러가지 기계적 표면처리방법이 임프란트 표면조도 및 성상에 미치는 영향, 대한치주과학회지, 24 : 131-143, 1994.
3. 최정원, 강윤선, 이근우 : Titanium disc에 도포한 부착단백질이 사람 치은 조섬유세포의 부착 및 증식에 미치는 영향, 연세치대논문집, 8 : 79-106,, 1993.
4. Budd, T. W., Bielat, K. l., Meenaghan, M. A. and Schaaf, N. G., : Microscopic observations of the bone/implant interface of surface-Treated titanium implant, Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 6 : 418-426, 1991.
5. Buser, D. and Schenk, R. K., ; Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs, J. Biomed. Mater. Res., 25 : 889-902, 1991.
6. Kimberly, M. S. and Keller, J. C. : Short-term plasma-cleaning treatments enhance in vitro osteoblast attachment to titanium, J. Oral Implantol., 18 : 130-137, 1992.
7. Albrektsson, T., Br nemark, P. I., Hansson, H. A. and Lindstrom, J. : Osseointegrated titanium implants, Acta. Orthop. Scand., 52 : 155-170, 1981.
8. Kasemo, B. : Biocompatibility of titanium implants : Surface science aspects, J. Prosthet. Dent., 49 : 832-837, 1983.
9. Kasemo, B. and Lausmaa, J. : Biomaterial and implant surfaces : On the role of cleaniness, contamination, and preparation procedures, J. Biomed. Mater. Res. : Applied Biomaterials, 22 : 145-158, 1988.
10. Klauber, C., Lensz, L. J. and Henty, P. J. : Oxide thickness and surface contamination of six endosseous dental implants determined by electron spectroscopy for chemical analysis : A preliminary report, Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 5 : 264-271, 1990.
11. Könönen, M., Hormia, M., Kivilahti, J., Jautaniemi, J. and Thesleff, I. : Effect of surface processing on the attachment, orientation and proliferation of human gingival fibroblasts on titanium, J. Biomed. Mater. Res., 26 : 1325-1341, 1992.
12. Parr, G. R., Gardner, L. K and Toth, R. W. : Titanium : The mystery metal of implant dentistry. Dental materials aspects, J. Prosthet. Dent., 54 : 410-414, 1985.
13. Cooper, L. F. and Handelman, B., McCormack, J. D. X. andGuckers, A. D. X. : Binding of murine osteoblastic cells to titanium disks and collagen I gels : Implications for alternative interpretations of osseointegration, Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 8 : 264-272, 1993.
14. Lekholm, U., Adell, R., Lindhe, J., Br nemark, P. I., Eriksson, B., Rockler, B., Lindvall, A. M. and Yoneyama, T. : Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures (II) : A crosssectional retrospective study, Int. J. Oral Maxillofac. Surg., 15 : 53-61, 1986.
15. Hickey, J. S., O'Neal, R. B., Scheidt, M. J., Strong, S. L., Turgeon, D. and Dyke, T. E. V. : Microbiologic characterization of ligature-induced peri-implantitis in the microswine model. J. Periodontol., 62 :

548-553, 1991.
16. Lindhe, J., Berglundh, T., Ericsson, I., Lijienberg, B. and Marinello C. : Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues, Clin. Oral Impl. Res., 3 : 9-16, 1992.
17. Parham, P. L., Cobb, C. M., French, A. A., Love, J. W., Drisko, C. L. and Killoy, W. J. : Effects of an Air-powder abrasive system on plasma-sprayed titanium Implant surfaces : An in vitro evaluation, J. Oral Implantol., 15 : 78-86, 1989.
18. Fox, S. C., Moriarty, J. D. and Kusy, R. P. : the Effects of scaling a titanium implant surface with metal and plastic instruments : An in vitro study, J. Periodontol., 61 : 485-490, 1990.
19. Barnes, C. M., Fleming, L. S. and Mueninghoff, L. A. : An SEM evaluation of the in-vitro effects of an air-abrasive system on various implant surfaces, Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 6 : 463-469, 1991.
20. Block, C. M., Mayo, J. A. and Evans, G. H. : Effects of the Nd : YAG dental laser on plasma-sprayed and hydroxyapatite-coated titanium dental implants : Surface alteration and attempted sterilization, Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 7 : 441-449, 1992.
21. Guy, S. C., McQuade, M. J., Scheidt, M. J., McPherson III, J. C., Rossmann, J. A. and Van Dyke, T. E. : In vitro attachment of human gingival fibroblasts to endosseous implant materials, J. Periodontol., 64 : 542-546, 1993.
22. 서조영, 최제용, 유현모, 박준봉, 조준승 : 치주인대세포와 치은섬유아세포의 성상에 관한 비교, 대한구강생물학회지, 15 : 14-28, 1991.
23. Bowers, K. T. and Keller, J. C. : Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast In vitro, Int. J. Oral Maxillofac. Implants,7 : 302-310, 1992.
24. Hahn, H. and Palich, W. : Preliminary evaluation of porous metal surfaced titanium for orthopedic implants, J. Biomed. Mater. Res., 4 : 571-577, 1970.
25. Brunette, D. M., Kenner, G. S. and Gould, T. R. L. : Grooved titanium surface orient growth and migration of cells from human gingival explants, J. Dent. Res., 62 : 1045-1048, 1983.
26. Zablotsky, M., Meffert, R., Mills, O., Burgess, A. and Lancaster, D. : The macroscopic, microscopic and spectrometric effects of various chemotherapeutic agents on the plasma-sprayed hydroxyapatite-coated implant surface, Clin. Oral Impl. Res., 3 : 189-198, 1992.
27. Kasemo, B. and Lausmaa, J. : Biomaterial and Implant surfaces : A surface science approach, Int. J. Oral Maxilofac. Implants, 3 : 247-259, 1988.
28. 이상엽, 최상묵 : 정상 및 이환백악질에 대한 치은조섬유세포의 부착에 관한 전자현미경적 연구, 대한치주과학회지, 17 : 105-114, 1987.
29. Listgarten, M. A., Buser, D. and Steinemann, S. G., : Light and trasmission electron microscopy of the intact interfaces between non-submerged titanium-coated epoxy resin implants and bone or gingiva, J. Dent. Res., 71 ; 364, 1992.
30. Kurashina, K., deLange, G. L., dePutter, C. and deGroot, K., : Reaction of surrounding gingiva to permucosal implants of dense hydroxyapatite in dog, Biomaterials, 5 : 215, 1984.
31. Dmytryk, J. J., Fox, S. C. and Moriarty, J. D. X. : The effect of scaling titanium implant surface with metal and plastic instruments on cell attachment, J. Periodontol. 61 : 491-496, 1990.
32. 이상구, 서조영, 박준봉 : 치근면 구연산 도

포가 치주인대세포의 부착과 전개에 미치는 영향, 대한치주과학회지, 23 : 77-96, 1993.
33. 이진미, 서조영, 박준봉 : 치주인대세포의 부착과 전개에 관한 형태학적 관찰, 대한치주과학회지, 23 : 97-108, 1993.
34. Adell, R. : A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw, J. Oral Surg., 10 : 387-416, 1981.
35. Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B., Branemark, P. I., Lindhe, J., Eriksson, B. and Sbordone, L. : Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures (I). A 3-year logitudinal prospective study, Int. J. Oral Maxillofac. Surg., 15 : 39-52, 1986.
36. Albrektsson, T. : Tissue integrated prostheses. 4th ed. Quintessence publishing Co., Chicago (1983) pp. 129-143.
37. Tjan, A. H. L. and Chan, C. A. : The polishability of posterior composites, J. Prosthet. Dent., 61 : 138-146, 1989.
38. Binon, P. P., Weir, D. J. and Marshall, S. J. : Surface analysis of an original Br nemark implant and three related clones, Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 7 : 168-175, 1992.
39. Br nemark, P. I., Breine, U., Adell, R., Hansson, B. O., Lindstrom, J. and Ohsson, A. : Intraosseous anchorage of dental prostheses I. Experimental studies, Scond. J. Plast. Reconstr. Surg., 3 : 81-100, 1969.
40. Br nemark, P. I. : Osseointegration and its experimental background, J. Prosthet. Dent., 50 : 399-410, 1983.
41. Brunette, D. M. : The effects of implant surface topography on the cells, Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 3 : 231-246, 1988.
42. Gould, T. R. L. and Brunette, D. M. : Ultrastructural study of the attachment of human gingiva to titanium in vivo, J. Prosthet. Dent., 52 : 418-420, 1984.
43. Hansson, H. A., Albrektsson, T. and Br nemark, P. I. : Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants, J. Prosthet. Dent., 50 : 108-113, 1983.
44. Hobo, S., Ichida, E. and Garcia, L. T. : Osseointegration and Occlusal Rehabilitation, Quintessence Publishing Co., Chicago(1989) pp. 33-54.
45. James, R. A. and Schultz, R. L. : Hemidesmosome and adhesion of junctional cells to metal implants : A preliminary report, Oral Implantol., 4 : 294-302, 1974.
46. Keenan, M. P., Shillingburg, H. T., Duncanson, M. G. and Wade, C. K. : The effects of cast gold surface finishing on plaque retention, J. Prosthet. Dent., 43 : 163-173, 1980.
47. Meffert, R. M., Langer, B. and Fritz, M. E. : Dental implants : A r eview, J. Periodontol., 63 : 859-870, 1992.
48. Mombelli, A., Van Oosten, MAC., Schurch, E. and Larg, N. P. : The microbiota with successful or failing osseointegrated titanium implants, Oral Immunol., 2 : 145-151, 1987.
49. Naji, A. and Harmand, M. F. : Study of the effect of the surface state on the cytocompatibility of a Co-Cr alloy using human osteoblasts and fibroblasts, J. Biomed. Mater. Res., 24 : 861-871, 1990.
50. Olefjord, I. and Hansson, S. : Surface analysis of four dental implant systems, Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 8 : 32-40, 1993.
51. O'Neal, R. B., Sauk, J. J. and Somerman, M. J. : Biological requirements for material integration, J. Oral Implantol., 18 : 243-255, 1992.
52. Orton, G. S., Steele, D. L. and Wolinsky, L. E. : The dental professional's role in monitoring and maintenance of tissue-integrated prostheses, Int. J. Oral Maxillofac

Implants, 4 : 305-310, 1989.
53. Rams, T. E., Roberts, T. W., Tatum, H. and Keyes, P. H. : The subgingival microbial flora associated with human dental implants, J. Prosthet. Dent., 51 : 529-534, 1984.
54. Singh, G. B., O,Neal, R. B. and Brennan, W. A. : Surgical treatment of induced periimplantitis in the micropig ; clinical and histological analysis, J. Periodontol., 64 : 984-989, 1992.
55. Sinha, R. K., Morris, F. and Shah, S. A. : Surface composition of orthopaedic implants metals regulates cell attachment, spreading, and cytoskeletal organization of primary human osteoblasts in vitro, Clin. Orthop., 305 : 258-272, 1994.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. The EDX Spectra of Experimental groups
T : 평활한 타이타늄면 ST : Stone 처치한 타이타늄면
TPS : Titanium plasma 피복된 타이타늄면
Al : Alumium Ti : Titanium

Fig. 2. Pure titanium after 30 minutes of incubation.
The cells are generally round in shape. The surface is mostly covered with blebs and lamellopodia is extended to disc.
(Bar - : a, 100μm, b, 50μm)

Fig. 3. Pure titanium after 6 hours of incubation.
The cells are elongated and contact with each other by numerous process. (Bar - : a, 100μm, b, 50μm)

Fig. 4. The cells show remarkably elongated with polarity and intimately attached to surface. (Bar - : a, 100μm, b, 50μm)

Fig. 5. Low speed stone bur treated group after 30 minutes of incubation.
Slightly irregular and rough surface with remaining TPS is showed.
General morpholgy of the cell is similar to pure titanium group but showed less lamellopodia. (Bar - : a, 100μm, b, 50μm)

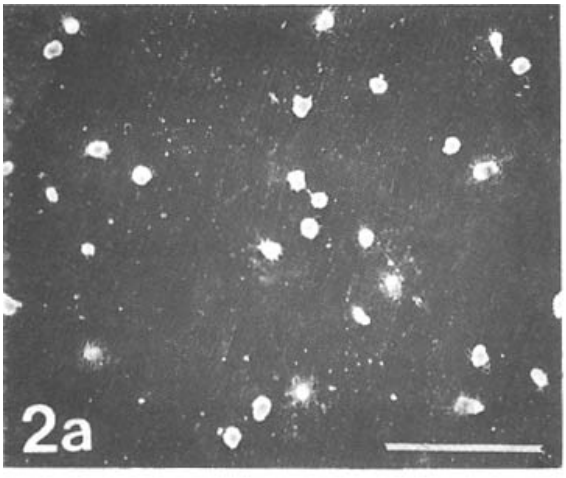
Fig. 6. Low speed stone bur treated group after 6hours of incubation.
The cells are attached with more thin and long process.
(Bar - : a, 100μm, b, 50μm)

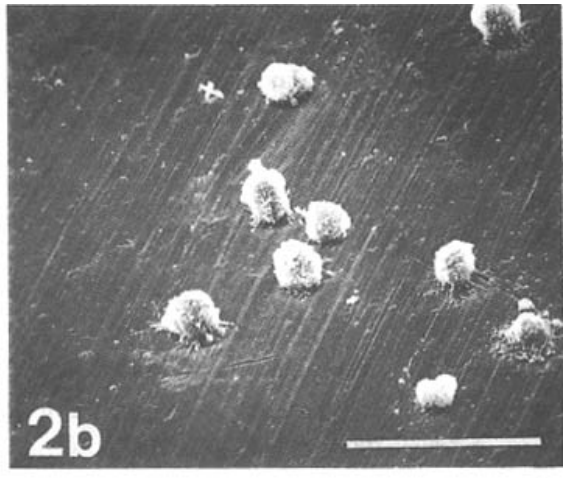
Fig. 7. Low speed stone bur treated group after 24hours of incubation.
The surface is covered with remarkedly polarized cells and the cells are have elongated cytoplasm and attached with each other.
(Bar - : a, 100μm, b, 50μm)

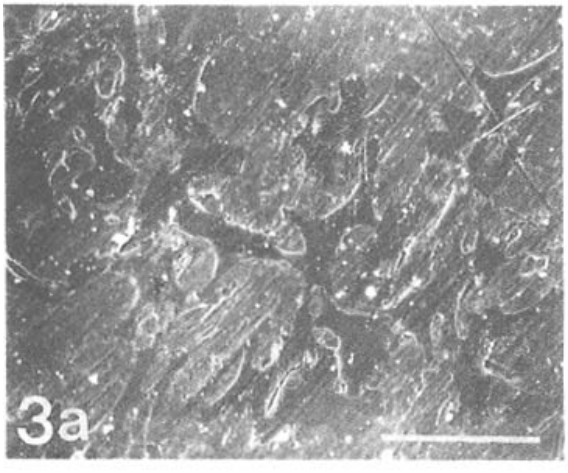
Fig. 8. TPS group after 30 minutes of incubation.
The cells are round in shape and not distinguish with irregular, rough surface. (Bar - : a, 100μm, b, 50μm)

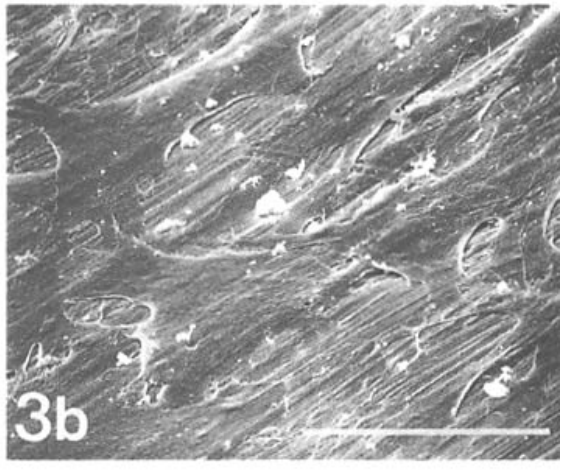
Fig. 9. TPS group after 6 hours of incubation.
The cells are less elongated but more longer and thin processes were multiple point contact. (Bar - : a, 100μm, b, 50μm)

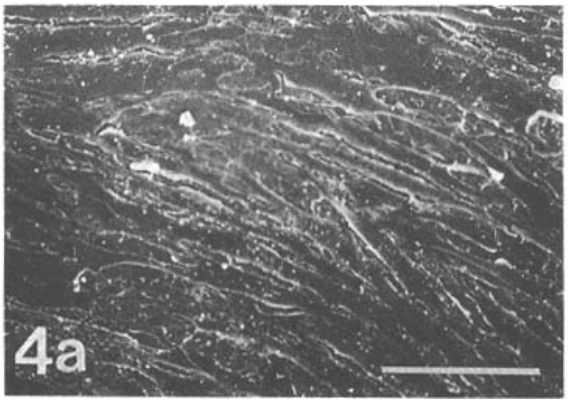
Fig. 10. TPS group after 24 hours of incubation.
General morphology of the cells are similar to TPS group after 6hours of incubation. (Bar - : a, 100μm, b, 50μm)

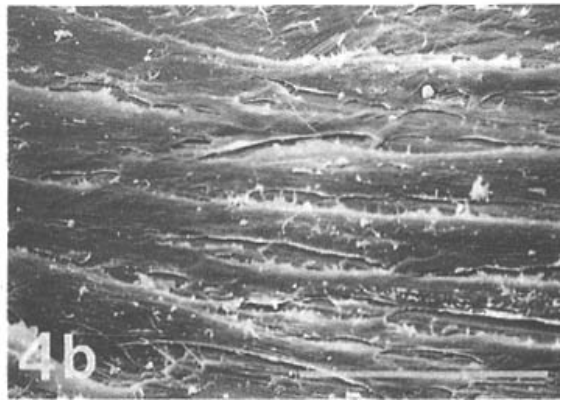

2a

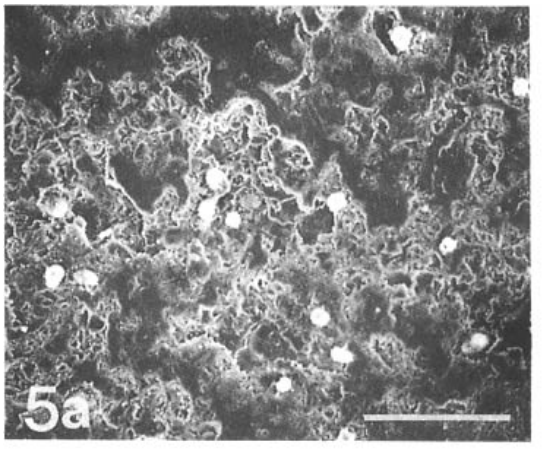

2b

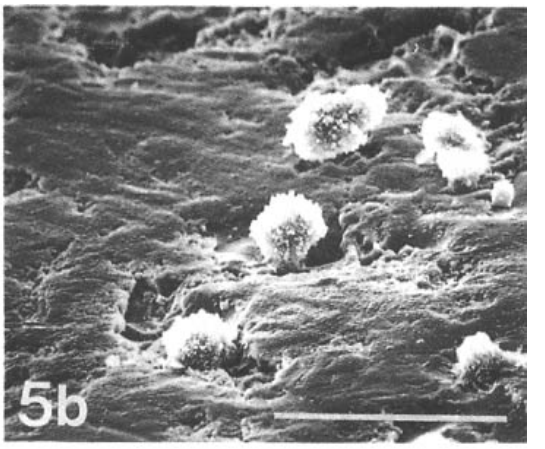

3a

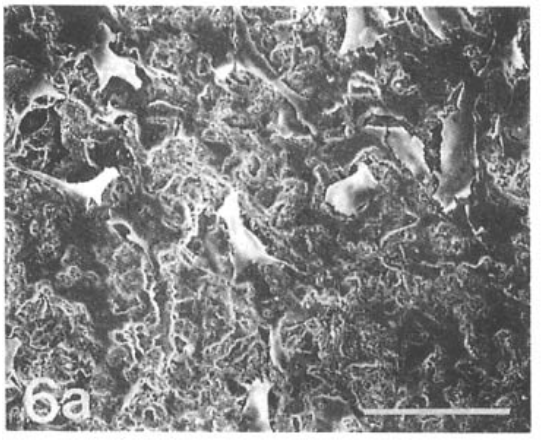

3b

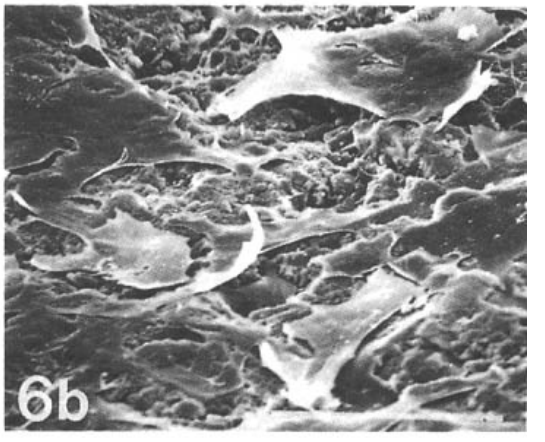

4a


4b


5a

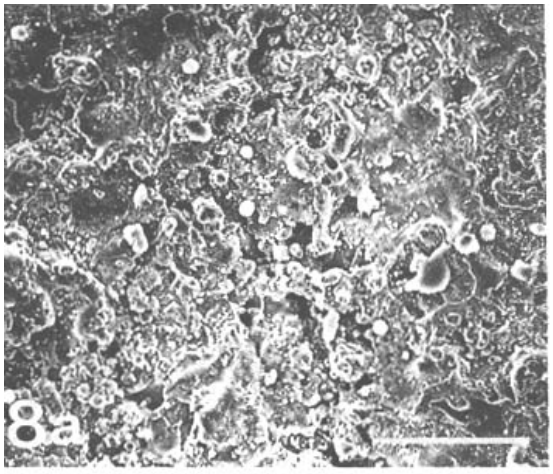

5b

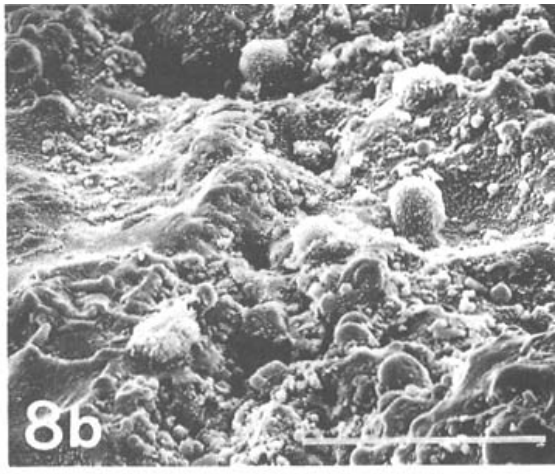

6a

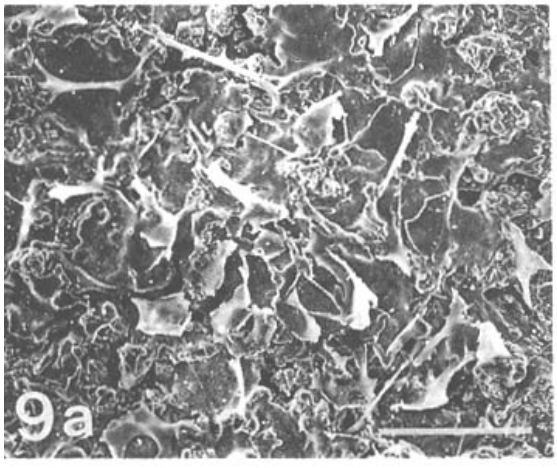

6b

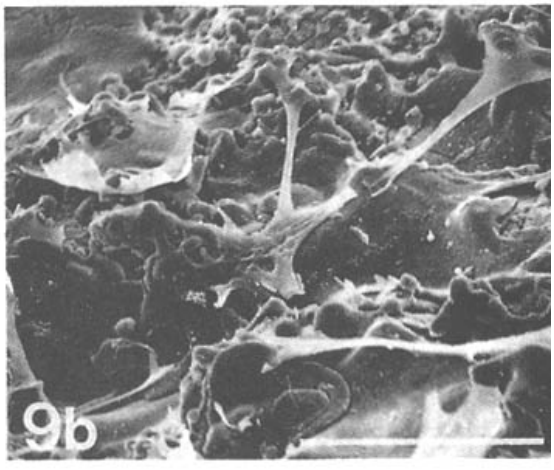
7a

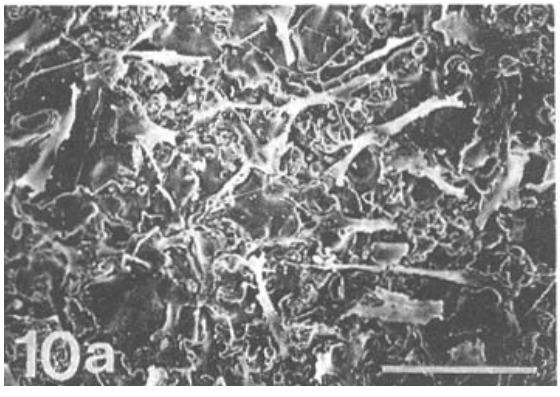
7b

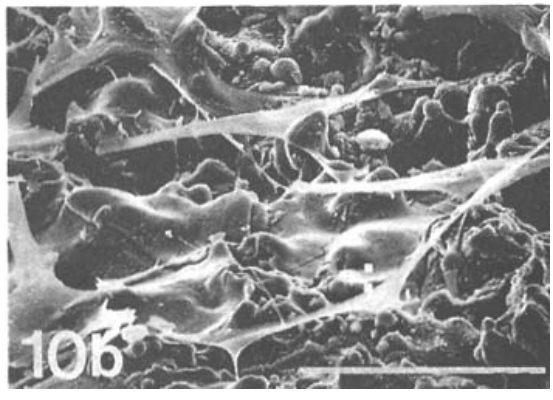

8a


8b


9a


9b


10a


10b

—Abstract—

THE MORPHOLOGICAL OBSERVATION OF HUMAN GINGIVAL FIBROBLASTS ATTACHMENT AND SPREADING ON THE MECHANICAL TREATED TITANIUM PLASMA SPRAYED IMPLANT SURFACE

Yun-Hi Whang, Jae-Mok Lee, Jo-Young Suh

Dept. of Periodontology, School of Dentistry, Kyungpook National University

Currently titanium is the material of choice for implants because of its biological acceptance. This high degree of biocompatibility is thought to result, in part, from the protective and stable oxide layer that presumably aids in the bonding of the extracellular matrix at the implant-tissue interface. Endosseous dental implants are interfaced with bone, connective tissue, and epithelium when implanted into the jaw bone. The soft tissue interface including connective tissue and epithelium is one of the most critical factors in the determination of implant maintenance and prognosis.

For maintenance of failing or failed implants, it is essential to treat the implant fixture surface to remove bacterial endotoxins and make a surface tolerated by surrounding soft and hard tissues.

In this study, the effect of mechanical treatment on titanium plasma sprayed implant on adhesiveness and proliferation of human gingival fibroblasts and changed surface characteristics were studied. titanium plasma sprayed discs manufactured by Friedrichsfeld company were treated with loaw speed stone bur, a rubber point and a jetpolisher. Its surface components were analyzed with Energy dispersive X-ray spectroscopy to evaluate whether the surface characteristics were altered or not. To observe the spreading pattern of the human gingival fibroblasts which attached to the all specimens author used the scanning electron microscope.

The results were as follows : Pure titanium and plasma sprayed titanium, stone polished titanium showed titanium peak and small amout of aluminum, so there was no alteration on surface characteristics.

Under the scanning electron microscopic examination in the initial attachment of human gingival fibroblast, there was a slight enhancement in pure titanium, stone polished titanium than plasma sprayed titanium. After 6 hours, the pure titanium and stone polished titanium showed human gingival fibroblasts were elongated and connected with numerous processes.

Human gingival fibroblasts were more intimately attached on the pure titanium discs than on the other discs. The human gingival fibroblasts attached on the plasma sprayed titanium by thin and elongated processes. After 24 hours, the human gingival fibroblasts connected with each other via numerous processes and compeletly covered the pure titanium and stone polshed titanium discs. Human gingival fibroblasts had multiple point contacts with more long and thin lamellopodia and showed a little bare surface on plasma sprayed titanium discs.