

# 초내식성 스테인레스강의 금속이온용출 특성 및 세포적합성

김철생\*·박진수·허 익·강 곤\*

= Abstract =

## Metal Ion Release Behaviour and Cytotoxicity of a Super Stainless Steel

Cheol-Sang Kim\*, Jin-Soo Park, Erk Her and Gon Khang\*

The toxic metal ion release behaviour and the cytotoxicity of a super stainless steel (S.S.S, 22Cr-20Ni-6Mo-0.25N) were investigated. The measurement of the amount of static and wear-induced trace metal ion released from the steels was conducted in Hank's balanced salt solution using an electrothermal atomic absorption spectrometry equipped with graphite furnace. And the in vitro cytotoxicity of the materials was assessed in cell culture. The static dissolution rates of Fe and Cr ions from the S.S.S were significantly lower than those of 316L SS. However, the Ni ion release from the S.S.S during the first 4 weeks was greater than that from 316L SS by 15-45%. Also, the wear-induced dissolution rates from the steels were not correlated either with their elemental composition rates or with the static metal ion release rates. The S.S.S did not deteriorate the osteoblasts viability. And no toxic response was observed from the macrophages cultured for 7 days in RFMI 1640 medium immersed with the S.S.S specimens.

**Key words :** Biocompatibility, Super stainless steel, Metal ion release, Cytotoxicity

### 서 론

경조직대용 소재로 사용되고 있는 금속매식재료의 물리적 결함 또는 부식때문에 발생하는 매식체 파괴 및 인체내 거부반응에 대한 연구보고가 많으며<sup>1-3)</sup>, 이 매식체들의 생체적합성을 향상시키기 위하여 보다 내식성이 강한 합금을 개발하거나 열처리 또는 표면처리기술들을 응용하여 왔다. 특히 316L 스테인레스강(316L SS)등 오우스테나이트계 스테인레스강은 가공의 용이함과 기계적 강도가 높고 대체적으로 부식저항도 커서 1926년 생체재료 분야에 응용된 후 지금까지도 인공관절, 접골용 금속판, 금속핀, 장력선 또는 체외고정장치 등에 널리 사용되고 있는 합금중의 하나이다. 그러나 이 재료의 인체내 이물반응(foreign body reaction)에 대한 보고가 많으며, 부식에 의해서 생성되는 금속이온들이 근접해 있는 골조직 또는

혈액속으로 유입됨에 따라 여러 형태의 독성반응을 일으키는 것으로 알려져 있다. 니켈과 크롬과 같은 금속이온의 용출은 정상적인 생리기능을 방해하고 알려져, 국부염증 및 발암 반응들을 일으킬 뿐만 아니라 매식체의 취약부에서의 부식은 마모와 함께 매식체 파괴의 원인이 되기도 한다<sup>4-8)</sup>.

그외 현재 금속매식재료 중 인체내에서 가장 비활성한 소재로 알려져 있는 티타늄 및 티타늄 합금은 부식에 매우 강하고 탄성계수도 코발트소재 합금의 절반 정도되어 경조직대용 소재로서 응력차폐현상(stress shielding effect)을 줄일 수 있다는 장점을 갖고 있다. 그러나 이 소재는 마모저항, 피로한계 및 전단강도가 약하기 때문에 인공관절의 마찰부위 또는 접골용 금속판의 나사 등에는 사용하지 못하고 있다. 코발트소재 합금 역시 불충분한 연성의 문제가 있으며, 카본, 알루미늄, 인산칼슘화합물

전국대학교 의과대학 면역학교실

Department of Immunology, College of Medicine, Kon Kuk University

\* 전국대학교 의과대학 의학공학과

\* Department of Biomedical Engineering, College of Medicine, Kon Kuk University

# 이 논문은 1994년도 한국과학재단의 핵심전문연구과제 연구비에 의하여 연구되었음.

통신저자 : 김철생, (380-701) 충북 충주시 단월동 322, Tel. (0441)40-3765, Fax. (0441)848-0620

등의 바이오세라믹스들은 충격에 약하여 인체내 기능에 따라 제한적으로 사용되고 있다. 따라서 보다 부식에 강하고 내마모성 및 물리적 강도가 우수한 금속매식재료의 개발이 요구되고 있다.

이러한 배경에서 본 연구에서는 최근 국내에서 개발된 고질소 오우스테나이트계 초내식성 스테인레스강(super stainless steel, S.S.S)에 대하여 동물실험전 요구되는 체외 생체적합성 평가를 실시하여 상업화된 금속매식재료와 비교평가 하였다. 이미 연구된 결과에 의하면 S.S.S의 부식저항이 상업화된 316L SS와 코발트소재 합금보다 높고 티타늄합금과 비슷하며, 마모저항과 기계적 강도는 티타늄합금보다 훨씬 우수한 것으로 보고 되었다<sup>9,10</sup>.

동물실험전에 체외 생체적합성 여부를 평가하기 위하여 S.S.S의 금속이온용출 특성 및 금속독성반응 정도를 현재 매식체 소재로 사용되고 있는 316L SS, 티타늄과 비교하였다. 매식체 주위의 조직과 국부적 또는 전체적인 반응으로 인한 부작용을 고려하는데 있어 생체재료의 세포반응에 대한 연구는 재료의 생물학적 적합성 평가에 있어서 가장 중요하고 기본적인 과정이다<sup>11,12</sup>. 특히 금속재료에서 부식에 의한 금속이온들이 주위 조직에 용출되어 체내의 상재세포(resident cell)들에게 타격을 주거나 면역담당 세포들에 영향을 미치게 된다.

생체재료의 세포독성반응연구를 위한 여러 방법들이 제시 되었는데, 그 중에는 임파구 증식실험, 세포형태학적 검사, 알러지반응을 주로 조사하는 과립구의 화학적 활성화 또는 NK(natural killer) 세포독성검사 등이 있다. 이러한 실험을 위하여 체외에서 단기간내에 검증(screening)할 수 있는 방법으로 Interference Reflection Microscopy(IRM), Total Internal Reflection Aqueous Florescence Microscopy(TIRAF), Scanning Electron Microscopy(SEM), Antibody Exclusion법 등을 통한 생체재료와 조직간의 접합부위를 확인하는 방법들이 있다<sup>13-15</sup>.

S.S.S소재의 경조직적합성 여부를 세포와의 반응관점에서 평가하기 위하여 S.S.S가 정상 골아세포(osteoblast)나 대식세포(macrophage)에 어떤 영향을 미치는지에 대하여 316L SS 및 금속생체재료 중 가장 생체비활성 소재로 알려져 있는 티타늄과 비교평가 하였다. 골아세포는 뼈를 형성하는 데 중요한 역할을 하고, 생체재료가 경조직에 매식될 경우 민감하게 반응하는 체내세포들 중 대표적인 것으로 대식세포는 비특이적 면역반응에 관여하고 있을 뿐 아니라 체내의 전 조직에 걸쳐 존재하는 면역계에 있어 중추적 역할을 한다. 따라서 각 소재들이 침적된 각 Medium속에서의 골아세포 및 대식세포들의 생존율(viability)을 측정하여 S.S.S의 단기간 세포적합성을 조사하였다.

## 실험 방법 및 재료

### 1. 정적 금속이온 용출 실험

직경 10mm, 높이 5mm 의 S.S.S(22Cr-20Ni-6Mo-0.25N-0.04C-bal.Fe), 316L SS(18Cr-10Ni-2.5Mo-0.03C-bal.Fe) 환봉시편들을 외과용 매식체(surgical implant)를 위한 ASTM 규정(ASTM-86,138)에 따라 가공, 연마, 세정하였다. 유사골용액 실험에 흔히 사용되는 Hank's Balanced Salt Solution(1.5mM DS-HBSS)에서 일정 기간 동안 5% CO<sub>2</sub> Incubator(Vision Scientific Co., Model VS-9108M, Korea)내에서 완전침적한 후 표면으로부터 용출되는 금속이온의 양을 탄소로 원자흡수분광분석기(Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometer, GFAAS, GBS Scientific Equip. PTY LTD, Model 902, Australia)에 의하여 측정하였다.

1.5mM EDTA-HBSS는 HBSS 1 liter에 0.558g의 EDTA를 첨가하여 총 4 liter를 준비하였다. 10ml 용액이 담긴 20ml 의 가스침투가능한 플라스틱병(Plastic gas permeable vials)속에 시편을 침적시킨 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> Incubator에 저장하였다. 1,2,3,4,8,16,32주간 침적후 각 시편으로부터 용출된 금속이온을 조사하기 위하여 각 기간별로 7개의 샘플을 준비하였고 금속시편이 없는 대조군을 포함해 총 128개의 샘플을 침적시켰다. 침적중 금속시편의 Vial과의 접촉면적을 최소화하기 위하여 원통측면이 접촉되도록 하였으며 불규칙적인 마모에 의한 영향을 없애기 위하여 교반을 하지 않았고, 각 기간별로 시료채취시에만 수 초간 교반하였다.

용액속에 용출된 미소량의 금속이온을 측정하기 위하여 극미량(ppb정도) 무기원소분석에 널리 사용되고 있는 탄소로 원자흡수분광분석기를 이용하였고 열분해탄소코팅된 튜브(pyrolytically coated graphite tube)와 원자화 효율을 높이기 위하여 Platform을 사용하였다. 스테인레스강에 함유된 주 금속원소인 철, 크롬, 니켈이온의 양을 측정하였으며 시료의 측정전에 대조용액(Control Solution, Junsei Chemical Co, Japan)으로 보정하였다. 매 기간별로 7개의 시료를 측정하여 평균값을 통계처리하였다.

### 2. 마모 이온용출 실험

시편은 직경 15mm, 높이 5mm 의 S.S.S, 316L SS를 환봉으로 가공한 후 정적 금속이온용출실험과 동일하게 외과용 매식체를 위한 ASTM 규정에 따라 연마 및 세정을 실시하였다. 침적용액은 마모시간이 길어 부식에 의한 금

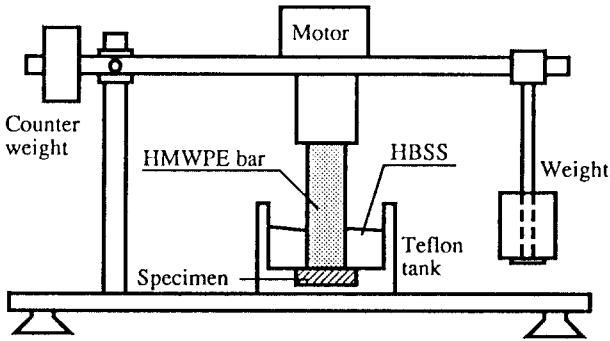


그림 1. 제작된 마모 이온용출 시험기의 구조  
Fig. 1. Schematic of the wear tester

속이온용출을 적게하기 위하여 EDTA를 첨가하지 않은 HBSS을 사용하였다.

시편은 표면변경된 면만이 노출되도록 테플론 용기의 밑면 중앙에 밀착고정 시켜 HBSS용액으로 완전침적 후 제작된 마모시험기에 고정하였다. 마모시험기는 모터 회전축에 지름 10mm의 고밀도 폴리에틸렌봉과 시편의 중심이 일치하도록 제작하였다(그림 1). 시편에 가해진 하중은 체중 약 60kg인 사람이 한 다리로 섰을 경우 인공대퇴두직경 30mm인 인공고관절에 전달되는 응력을 계산하여 이상화 하였다. 상온에서 200rpm의 회전속도로 각 시편당 10, 20, 40만 회전 후 마모에 의하여 용출된 크롬, 니켈 이온 양을 측정하였다.

### 3. 독성반응 실험

316L SS, S.S.S와 Ti시편들을 제외 금속이온용출용 시편의 형상 및 세정과정과 동일하게 제작, 처리하였고 배양액에 침적하기 전에 가압멸균(autoclaving)을 실시하였다.

골아세포는 부화장에서 유정란을 구입하여 38°C배양기에서 11일간 배양 후 유정란 대퇴부의 미숙골(embryo)을 취한 후 잘게 세절하고, Digestion buffer(0.8g NaCl, 5mg NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 20mg KCl, 150mg collagenase in 100ml distilled water)를 넣고 1시간 동안 교반하였다. 그 후 Fibroblast와 기타 잔여 조직세포를 제거하기 위하여 상등액은 버리고 다시 Digestion buffer를 첨가하여 1시간 동안 상온에서 다시 교반하였다. 그 후 상등액을 취하여 800xg에서 10분간 원심분리한 후 골아세포가 풍부한(90% 이상) Pallet을 취하였다(그림 2). 분리된 골아세포들을 10% FBS (Fetal Bovine Serum, Gibco U.S.A)가 함유된 세포배양액(RPMI 1640 Medium, Gibco

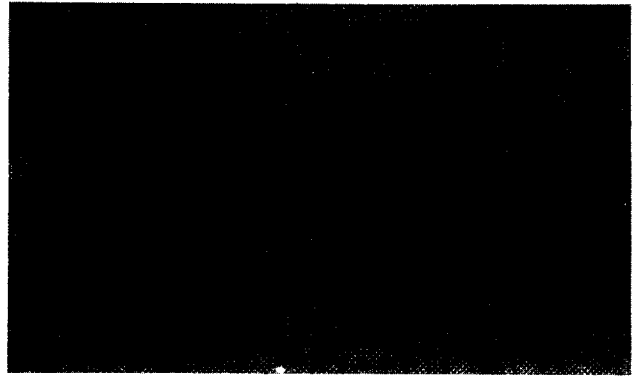


그림 2. Chicken embryo로부터 분리된 골아세포(mag. × 200)  
Fig. 2. Osteoblasts obtained from chicken embryo(mag. × 200)

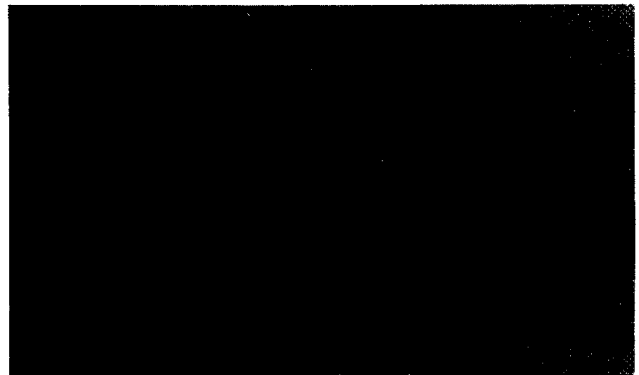


그림 3. 흰쥐 복강으로부터 추출된 복강세포(mg. × 200)  
Fig. 3. Peritoneal cells obtained from rat's peritoneum(mg. × 200)

U.S.A)으로 37°C의 5% CO<sub>2</sub> 세포배양기에서 배양하였다.

배양된 골아세포들을 Hemocytometer로 측정하여 1.8 × 10<sup>6</sup>cells/well의 세포밀도로 6Well plate에 접종(plating)하고 각 소재들을 침적시킨 후에 매일 새로운 배양액으로 교체하면서 배양하였다. 이때 대조군으로는 Medium만을 넣고 배양하였다. 배양시작 7일 후 각 Well 내의 세포 형태(morphology)를 위상차현미경으로 관찰하고 MTT(3-[4,5]-Dimethylethiazol-2-yl)-2,5-diphenyle tetrazolium bromide)방법에 의한 생존율을 측정하여 대조군과 비교하였다<sup>6)</sup>.

실험에 사용된 대식세포는 5ml의 1% Thioglycollate (Gibco, U.S.A)를 7주령된 쥐 (Sprague dowley) 복강내로 주사하고 3일 후에 RPMI 1640 Medium을 마리당 50 ml씩 복강으로 주입한 후 복강내의 삼출세포 (exudate cell)들을 수집 하였다 (그림 3). 순수한 대식세포를 분리하기 위하여 T75 Flask에서 10시간 동안 배양하고 부착

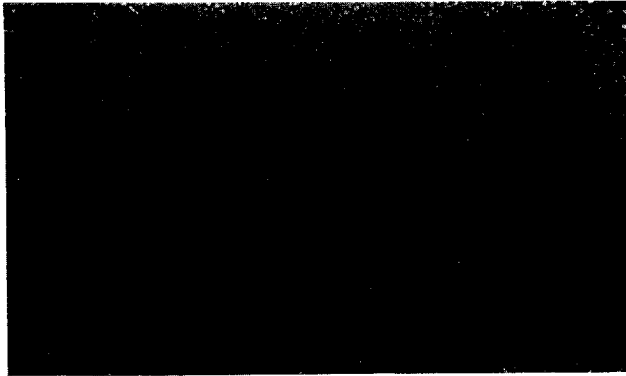


그림 4. 쥐복강의 대식세포(mg. × 100)  
Fig. 4. Macrophages of rat's peritoneum

되지 않은 세포들은 RPMI 1640 Medium으로 2회 세척함으로써 제거되었고, 부착된 세포들은 실험시까지 배양하였다 (그림 4).

소재들이 배양된 대식세포에 미치는 영향을 조사하기 위하여 먼저 6 Well내에 시편들을 넣고 RPMI 1640 medium 으로 배양하였다. 배양시작 7일째 그 배양상등액을 취하여 96 Well plate 에  $2 \times 10^5$  cells/well의 세포밀도로 접종되어 있는 대식세포에 처리하고 48시간 동안 배양하였다. 배양이 완료되면 50 ml의 MTT용액(1 mg/ml in PBS, Sigma, U.S.A)을 각 Well에 처리하고 48시간 동안 배양한 후 배양상등액을 제거한 상태에서 Iso-propanol을 각 Well당  $100 \mu\text{l}$  첨가하여 불용성의 Formazan을 녹이고 ELISA reader(Model EL 311SX, BIO-TEK Instruments, U.S.A) 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 다음과 같은 공식에 의하여 세포의 생존율을 조사하였다.

Macrophage Viability = (O.D. of test well/O.D. of control well) x 100%, O.D.; optimal density(적정농도)

## 결과 및 고찰

### 1. 정적 금속이온용출 특성

CO<sub>2</sub> Incubator내에 1.5mM DS-EDTA가 함유된 10 ml HBSS 속에 32주까지 침적 후 316L SS와 S.S.S 시편으로부터 용출된 Fe, Cr, Ni 이온량을 그림 5에 각각 나타냈다. 조내식성 스테인리스강과 현재 외과용 매식체료로 널리 사용하고 있는 316 L SS를 유사골용액에서 금속이온 용출 특성을 비교한 결과 Fe, Cr의 용출량은 S.S.S의 경우가 316L SS에 비하여 현격히 적었다. Ni 은 장기간(8주 이상) 침적한 S.S.S샘플에서 적은량이 검출되었으나 316L SS에 대한 그 차이가 절, 크롬에 비해 낮았다.

Fe는 1주 후에 316 L SS으로부터 이미 약 2.5배 많은 양이 용출되었으나 침적기간에 대하여 급격한 증가는 보이지 않았다. S.S.S의 경우 모든 침적기간에 대하여 316 L SS에 비하여 적은 양의 Fe용출 특성을 나타냈고 8주 후부터 포화되는 특성을 나타냈다.

32주까지 두 소재로부터 용출된 크롬의 양은 Fe, Cr 함금비에 비교할 때 Fe에 비하여 8ng/ml 이하로 매우

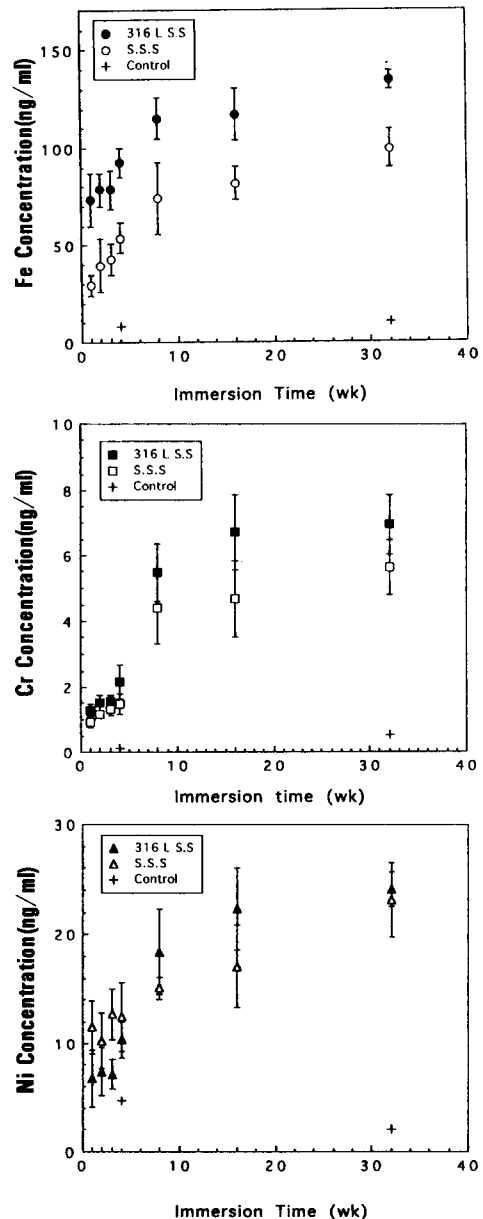


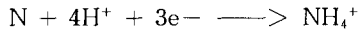
그림 5. 1.5mM-DS HBSS에 침적기간에 대한 Fe, Cr, Ni 이온 용출량

Fig. 5. Concentration of Fe, Cr and Ni ions in 1.5mM-DS HBSS as a function of immersion time. Error bars represent standard deviations

미소한 양이었으며, 두 소재를 비교할 때 Fe보다 큰 차이를 보이지 않았다. S.S.S가 316L SS에 비하여 약 20-40% 정도 낮은 Cr이온용출 특성을 보였다.

물론 금속이온용출 특성은 부식특성과 밀접한 관계가 있고, 그 부식특성은 합금원소의 조절에 의하여 변화되는 재료구조 및 표면특성에 좌우된다. 그러나 S.S.S와 316L SS에 포함된 Fe, Cr, Ni원소 함유량이 각각 68%Fe-18%Cr-10Ni와 52%Fe-22%Cr-20%Ni 임을 고려할 때 HBSS내에서 각 원소의 용출량을 비교한 결과 S.S.S이 316L SS보다 우수한 특성을 가지고 있다고 사료된다.

S.S.S의 이러한 특성은 6% Mo과 0.25% 질소의 상승효과(synergistic effect)에 따라 부동태피막이 강화되어 증가된 공식 및 틈부식 저항성과 관계있다. 또한 K. Mudali 등은 고질소 오우스테나이트계 스테인리스강은 피트(pit)내에서 질소이온의 용해에 의하여 암모늄을 형성함에 따라 국부적인 수소이온농도를 감소시켜 공식(pitting corrosion)을 지연시키는 특성을 갖고 있는 것으로 제안하였다<sup>17)</sup>.



양극분극 부식실험결과 S.S.S는 316L SS보다 해수에서 약 100배의 내부식성을 갖고 있는것으로 보고되어 있으나<sup>10)</sup> 유사골용액에서의 유해 금속이온 용출량은 316L SS에 비하여 최고 2.5배 이내의 수치를 보였다. 특히 인체내에서 금속알러지, 염증 및 발암반응 등 강한 독성반응을 일으키는 성분으로 알려져 있는 니켈의 경우 S.S.S로부터 용출된 양이 316L SS와 큰 차이를 보이지 않았으며, 그 이유는 S.S.S에 배합된 니켈의 조성비가 20%로서 316L SS에 비하여 약 2배 크기때문인 것으로 생각된다. 따라서 스테인리스강의 내부식성은 유사골용액에서의 항이온용출 특성과 깊은 연관이 있으나 각 합금원소의 용출량은 그의 조성비, 표면특성 등 여러요소에 의하여 영향받는 것으로 여겨진다.

## 2. 마모 이온용출 특성

초기 10만 회 연마의 경우 모든 시편에서 크롬의 용출은 거의 없었고, 20만, 40만 회 연마했을 경우 S.S.S와 316L SS로부터 용출된 크롬량은 그림6에서 보는 바와 같이 통계적으로 의미있는 차이를 보이지 않았다. 그러나 그림5에 나타난 것 처럼 1주부터 8개월 동안 정적 금속이온용출실험에서 얻어진 결과에 의하면 S.S.S가 316L SS보다 20-40% 적은 크롬량이 용출되었고 S.S.S의 평균용출량은 8개월 후 약 5.5 ng/ml 이었다. 20만회 연마 후 두 소재 모두로부터 이미 8 ng/ml 이상의 크롬이 용

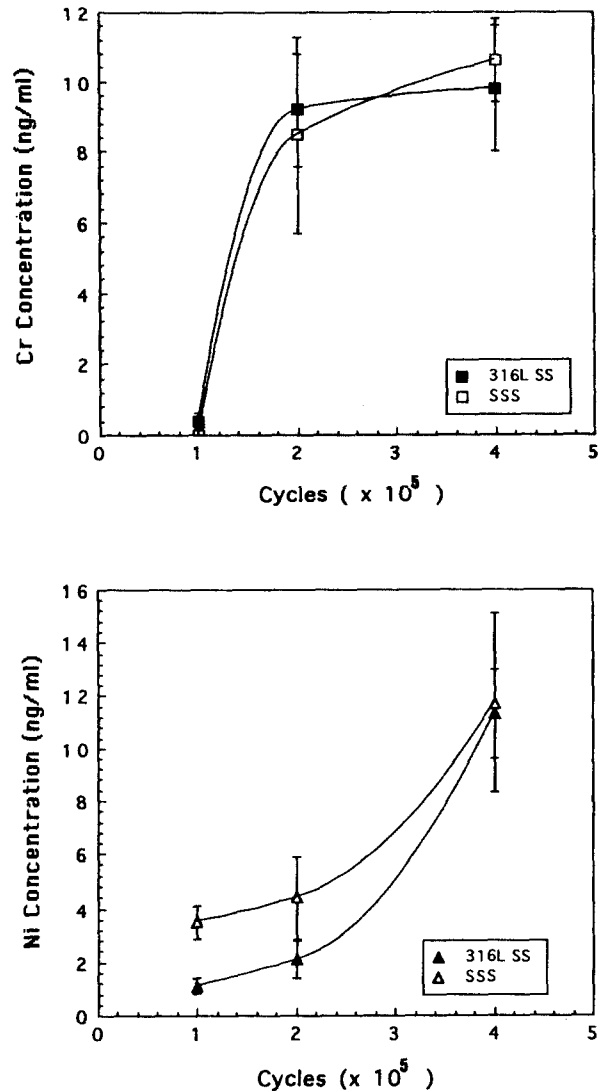


그림 6. Hank's solution내에 마모 용출된 Cr, Ni 이온농도  
Fig. 6. Concentration of Cr and Ni ions released by wear in Hank's balanced salt solution. Error bars represent standard deviations

출되었다. 따라서 스테인레스강의 산화크롬 표면층(chromium oxide surface layer)이 고밀도 폴리에틸렌과 마찰 시 쉽게 파손될 수 있음을 의미한다.

S.S.S가 316L SS보다 많은 니켈이 마모용출 되었으며, 이 현상은 S.S.S에 함유되어 있는 Ni 함량(20%)이 316L SS의 Ni(10%)보다 약 2배 더 많기 때문에 물리적인 마모에 의하여 S.S.S표면으로부터 용출된 니켈량이 더 많은 것으로 생각된다. 또한 두 스테인리스강 모두 니켈의 마모용출은 크롬과는 달리 연마 회전수가 증가함에 따라 급격히 증가하였다. 이것은 산화크롬 표면층의 마멸후

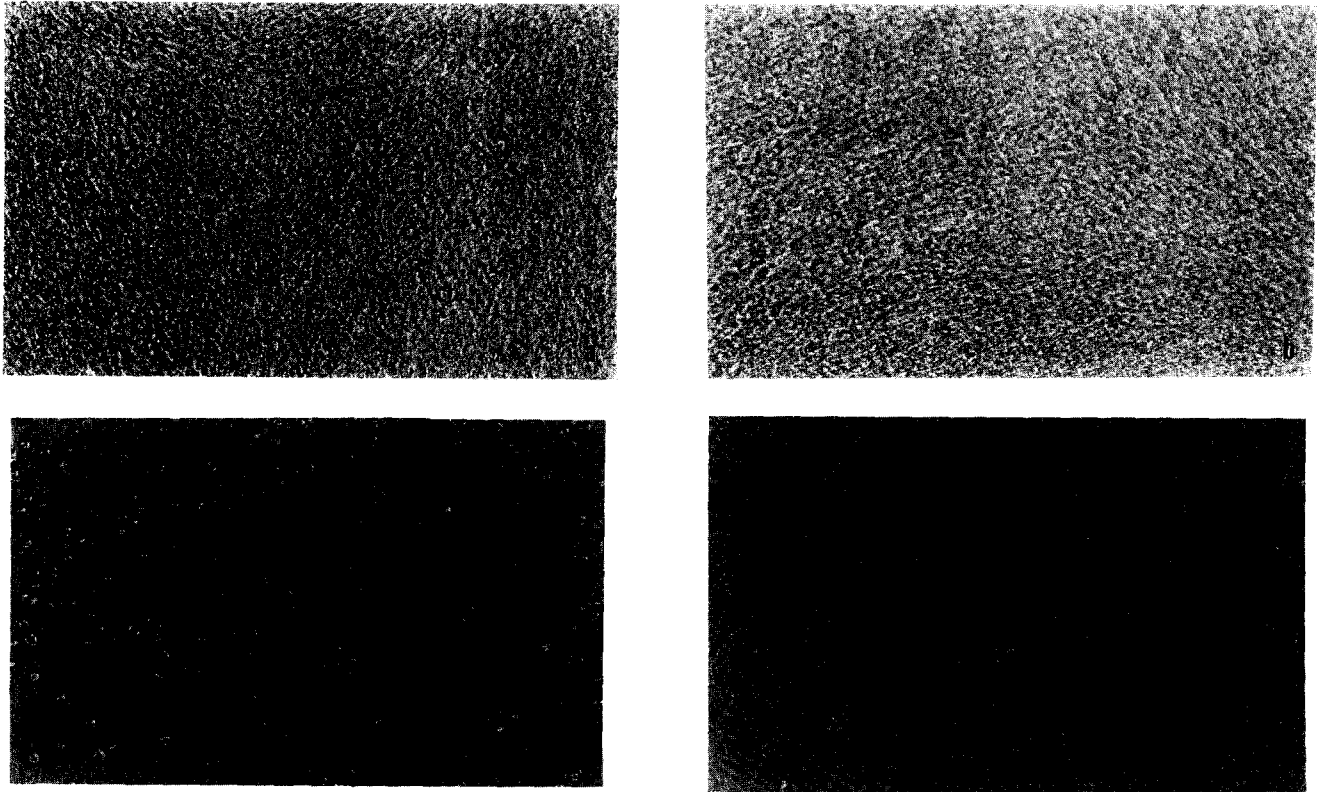


그림 7. 시편을 넣은 RPMI 1640 배양액에서 7일간 배양한 골아세포(a;대조군,b; S.S.S) 및 대식세포(c; 대조군, d; S.S.S)의 형태  
 Fig. 7. Morphologies of the osteoblasts(a; cotrol, b; S.S.S) and macrophages(c; cotrol, d; S.S.S) cultured in RPMI 1640 medium immersed with the specimens for 7 days

연약한 기저금속 속에 있는 다량의 니켈이 마모되어 나온 것으로 여겨진다.

한 연구결과에 의하면, 인체에 포함된 니켈량은 약 10 mg이고 그 농도는 혈청과 혈액에 각각 약 2.5 ng/ml, 5 ng/ml 정도인 것으로 보고되어 있다<sup>11)</sup>. 임플란트 매식 후 부식메카니즘은 매식체가 견디는 물리, 화학적 환경과 밀접한 관계가 있으므로 위의 정량적인 니켈농도를 본 연구결과 얻어진 니켈용출량과 직접 비교할 수는 없다. 그러나 일반적으로 수술 후 매식부위는 초기 수소이온농도가 높기 때문에 본 실험에 사용한 유사골용액 환경보다 훨씬 높은 부식성 분위기에 있다고 볼 수 있다. 따라서 두 스테인레스강 모두 정적 니켈이온 용출량이 8주 후 이미 15 ng/ml 이상이고, 특히 중성의 HBSS에서의 40만 회 연마 후 니켈의 마모용출량이 약 11 ng/ml임을 고려할 때 장기간 동안 인체내에 매식시 용출되는 니켈이온량은 무시될 수 없는 양임이 확실하다.

세계적으로 최근 몇몇 연구팀에서 고질소 오우스테나이트계 초내식성 스테인리스강을 생체재료에 응용하고 있고 S.S.S 또한 전기화학적 부식실험에서 티타늄과 유사할 정도로 높은 부식저항 특성이 보고되었다<sup>9,10)</sup>. 그러나, 이

소재에 다량 함유된 Ni때문에 마모에 의한 독성 니켈이온 용출량이 많아 인공관절과 같은 마찰부분 또는 접골용 금속판의 금속판-나사 계면 등 마찰상태에 있는 부분은 표면경화코팅 또는 이온주입법과 같은 표면경화기술이 적용되어야 할 것으로 사료된다. 또한 본 실험의 경우 폴리 에틸렌 봉과 시편의 마찰을 연속적으로 실시하였기 때문에 실질적으로 인체내에서 비연속적인 운동시 일어나는 스테인리스강의 재부동태화(repassivation)를 고려하지 않아 마모시험방법의 개선이 필요하다.

### 3. S.S.S의 세포 독성반응

S.S.S 시편을 넣은 배양액에서 7일간 배양한 골아세포는 대조군과 비교할 때 형태와 생존율검사(viability assay)에서 골아세포의 성장에 거부반응을 일으키지 않은 것으로 나타났고, 현재 매식체용 금속재료 중 가장 우수한 소재로 알려져 있는 티타늄 수준의 생체비활성 특성을 보였다. 그림 7 a,b에 생존된 골아세포의 현미경적 형태를 볼 수 있으며, 대조군 및 티타늄과 비교시 차이점을 발견할 수 없었다. 표 1은 대조군 및 각 시편에 대한 골아세포의 생존율을 보여 준다. 316L SS 시편을 7일간

표 1. 시편을 넣은 Medium에서 7일간 배양한 골아세포 및 대식세포의 생존률(괄호안; 표준편차)

Table 1. Viabilities of the osteoblasts and macrophages cultured in RPMI 1640 medium with the specimens for 7 days

Material	316L SS	S.S.S	Ti	Control
Osteoblast viability	89.5(2.8)	98.3(4.6)	98.6(2.6)	100(1.3)
Macrophage viability	101.0(5.0)	101.9(4.8)	109.6(15.1)	100(7.2)

침적한 배양액에서 골아세포의 생존율이 약 10% 감소하였으나, S.S.S 및 티타늄이 침적된 배양액에서의 골아세포 감소율은 대조군과 차이가 없었고, 변이된 이상세포도 발견하지 못하였다.

각 소재들과 함께 7일간 배양 상등액으로 대식세포를 배양한 후 대조군과 조직형태학적으로 비교했을 때 316L SS, S.S.S 및 티타늄은 세포배양에 아무런 영향을 미치지 않았다(그림 7 c, d). 표 1에 나타난 바와 같이 대식세포의 생존율 역시 대조군과 같은 수준을 보였고 316L SS가 침적된 배양액에서도 골아세포와는 달리 100%의 생존율을 보였다.

따라서 단기간 세포적합성 실험결과로 볼때 S.S.S 및 티타늄은 골아세포 및 대식세포와의 독성반응을 전혀 나타내지 않았다. 그러나 유사골용액에서 1주일 동안 용출된 철, 크롬, 니켈의 양이 각각 약 30-70 ng/ml, 1 ng/ml, 6-12 ng/ml인 점을 고려할 때 극미량의 절대금속이온량이 세포독성반응에 미치는 영향을 설명할 수는 없었다. 따라서 소재의 인체내에서의 장기간 안전성에 대한 세포독성반응 연구가 필요하며, 골아세포증식(proliferation) 및 면역활성 물질분비에 미치는 영향 등 보다 세밀한 실험이 요구된다.

### 결 론

고질소 초내식성 스테인리스강(S.S.S)과 316L SS를 유사골용액에서 8개월 까지 장기간 금속이온용출 특성을 비교한 결과 Fe, Cr의 용출량은 S.S.S의 경우가 316L SS에 비하여 각각 1.4-2.5배, 1.2-1.5배 적었다. Ni 은 장기간 침적한 S.S.S샘플에서 적은량이 용출되었으나 316L SS에 대한 그 차이가 철, 크롬에 비해 낮았다. 따라서 S.S.S의 항이온용출특성은 316L SS에 비하여 우수하나 절대 금속이온용출량과 인체내 독성반응에 관한 체계적인 연구가 필요하다.

S.S.S로부터 마모용출된 Cr이온량은 316L SS로부터

용출된 양과 비슷하였으며, S.S.S에 함유되어 있는 Ni 함량(20%)이 316L SS의 Ni(10%)보다 약 2배 더 많기 때문에 물리적인 마모에 의하여 S.S.S표면으로부터 용출된 니켈양이 더 많았다. 두 스테인레스강 모두 니켈의 마모용출은 크롬과는 달리 연마 회전수가 증가함에 따라 급격히 증가하였다. 따라서 스테인레스강을 경조직대용 패식체의 마찰부분에 사용할 경우 다량의 금속이온들이 용출됨에 따라 나타나는 독성반응을 줄이기 위하여 필수적으로 마모저항을 높일 수 있는 표면변경기술을 적용해야 할 것으로 사료된다.

단기간 세포적합성 실험결과로 볼때 S.S.S는 골아세포의 생존에 영향 미치지 않으며 대식세포의 배양에 전혀 독성반응을 보이지 않았다. 그러나 장기간 생체재료에 처리된 배양상등액이 골아세포나 대식세포에 대하여 미치는 영향 또는 골아세포의 증식 및 면역활성 물질분비에 관한 연구가 요구된다.

### 참 고 문 헌

1. H. G. French, S. D. Cook and R. J. Haddad, Jr., "Correlation of tissue reaction to corrosion in osteosynthetic devices," J. Biomed. Mat. Res., Vol.18, pp. 817-828, 1984.
2. A. McNamara and D. F. Williams, "The response to the intramuscular implantation of pure metals," Biomaterials, Vol. 2, pp. 33-4, 1981.
3. P. Ducheyne, P. D. Bianco and C. S. Kim, "Bone tissue growth enhancement by calcium phosphate coatings on porous titanium alloys: the effect of shielding metal dissolution product," Biomaterials, Vol. 13, pp. 617-624, 1992.
4. H. F. Hildebrand, C. veron and P. Martin, "Nickel, chromium, cobalt dental alloys allergic reactions: an overview," Biomaterials, Vol. 10, pp. 545-548, 1989[2] S. A. Brown and J. P. Simpson, "Plates and screws," J. Biomed. Mat. Res., Vol. 15, pp. 867-878, 1981.
5. M. B. Mayor, K. Merrit and S. A. Brown, "Metal allergy and the surgical patient," The American J. of Surgery, Vol.139, pp. 477-479, 1979.
6. 김 철생, "생체재료 평가기술(1)", 측정표준, 13(4), 20-25, 1990.
7. K. Nielsen, "Corrosion of metallic implants," Br. Corros. J., 2, 272-277, 1987.
8. J. Kruger, "Fundamental aspects of the corrosion of metallic implants," In Corrosion and degradation of implant materials, ASTM STP 684, Eds. B. C. Syrett and A. Acharya, 107-127, 1979.

9. Y. S. Park, "Effects of N, Mo, Ni and Mn on the pitting resistance of stainless steels," Interim Report, Corrosion Science Group, Brookhaven Nat. Lab, 1980.
10. Y. S. Kim and Y. S. Park, "The effect of nitrogen addition on the passivity of stainless steel," (written in Korean), J. of Corrosion, Vol. 18, pp97, 1989.
11. S. Lugowski, D. C. Smith and J. C. van Loon, "The determination of Al, Cr, Co, Fe, and Ni in whole blood by electrothermal atomic absorption spectroscopy," J. Biomed. Mater. Res., 21, 657-674, 1987.
12. G. Ciapetti, P. Road, L. Landi, A. Facchini and A. Pizzoferrato, "In vitro methods to evaluate metal-cell interactions", Inter. J. Or., 15, 62, 1992.
13. H. Verschueren, "Interference reflection microscopy in cell biology: methodology and applications", J. Cell Sci., 75, 279, 1985.
14. I. I. Singer, K. M. Kazakis and S. Scott, "Scanning electron microscopy of focal contacts on the substratum attachment surface of fibroblasts adherent to fibronectin", J. Cell Sci., 93, 147, 1989.
15. I. Todd, J. S. Mellor and D. Gingell, "Mapping cell-glass contacts of diotyostelium anoebae by total internal reflection aqueous fluorescence overcomes a basic ambiguity of interference reflection microscopy", J. Cell Sci., 89, 107, 1988.
16. D. Francois and L. Rita, "Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability", J. of Immunological Methods, 89, 271-277, 1986.
17. M. Sivakuma, U. Kamachi Mudali and S. Rajeswarl, "Nitrogen bearing austenitic stainless steels - A promising replacement for currently used 316L stainless steel orthopaedic implant material", Trans. of Nat. Association of Corrosion Eng., 1942-1948, 1993.