

타이타늄 임플란트 주위 골유착 관여 유전자의 발현: BMP2, BMP4

심정환¹ · 지유진² · 송현철²

¹분당서울대병원 구강악안면외과, ²가톨릭대학교 성빈센트병원 치과 구강악안면외과

Abstract

EXPRESSION OF OSSEOINTEGRATION-RELATED GENES AROUND TITANIUM IMPLANT: BMP2, BMP4

Cheong-Hwan Shim¹, D.D.S., M.S.D., Yu-Jin Jee², D.D.S., M.S.D., Ph.D.,
Hyun-Chul Song², D.D.S., M.S.D., Ph.D.

¹*Dept. of Oral & Maxillofacial surgery, Seoul National University Bundang Hospital*

²*Div. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dept. of Dentistry, St. Vincent's Hospital, The Catholic University of Korea*

After dental implant are planted into their bony site among the various growth factors associated with bone formation. BMP is expressed in the bone surrounding the implant fixture. By taking a close look at BMP2, BMP4 which are growth factors that take part in bone formation, its histologic features and radiographic bone healing patterns we would like to examine the mechanism of osseointegration.

We randomly used 8 male and female house rabbit and used diameter 5 mm height spiral shaped implants(Ostem, Korea) for animal use handled as a resorbable blast machined(RBM) surface and machined surface. 2group were formed and each group had RBM surface and machined surface implant or a simple bone cavity. After 3, 7, 14 and 28 days post surgery 2 objects were sacrificed from each group and histologic specimens were acquired. RT-PCR analysis was conducted and after H&E staining the extent of osseointegration was measured applying a histologic feature and histomorphometric analysis program. Quantity one -4.41(Bio-Rad, USA) was used after scanning the PCR product image of the growth factors manifested in each group.

According to the histomorphometric features the RBM, Machined surface group showed increased contact between bone and implant surface at 3, 7, 14 and 28 days after surgery. The BMP2 level increased in both experiment groups but remained unchanged in the contrast group. BMP4 levels stayed steady after the early post implantation period for RBM but showed decreased in the machined surface group and contrast group.

The amount of contact between bone and implant surface increased with the passage of time. BMP2, BMP4 were expressed in both experimental group and contrast group. These growth factors play a role in osseointegration of implant.

Key words : Osseointegration, Titanium implant, BMP2, BMP4, Histomorphometric analysis, RT-PCR analysis

※ 본 연구는 2004년도 가톨릭대학교 성빈센트병원 임상의학 연구비 지원에 의해 이루어졌음.

I. 서론

골유착(osseointegration)이란 광학현미경상에서 확인되어질 수 있는 정도에서 살아 있는 골과 하중을 견딜 수 있는 인공 매식체간의 직접적인 접촉이라 할 수 있다. 이러한 골유착에 대한 조직학적 과정은 많이 연구되었지만, 정확한 골유착 기전은 아직까지 확실하지 않으며, 타이타늄 임플란트와 골사이의 골유착을 유도하는 생물학적 기전은 아직 규명되어지지 않았다^{1,2)}.

임플란트와 골사이의 골유착을 향상시키기 위한 방법으로는 임플란트의 표면처리 방법, 골형성과 관련된 성장 인자 주입등의 방법이 소개되어졌다. 임플란트의 성공적인 골유착은 표면 질감, 구조, 골과 인접한 조직간의 상호작용에 의해 얻어질 수 있으며, 표면의 거칠기는 RBM surface가 machined surface보다 더 높으며 이는 골유착 정도가 향상될 수 있음을 알 수 있다. 임플란트의 표면과 관련하여 거칠기는 스트레스의 분산, 골내에서 임플란트의 유지, 임플란트 표면으로 직접적인 골의 성장, 기계적 연결과 관련이 되며, 재료의 표면 거칠기는 세포 기능, 기질의 축적, 무기질화에 영향을 준다^{3,4)}.

최근에는 임플란트와 골사이의 골유착의 정도를 증가시키기 위한 방법으로 골형성에 관여하는 성장인자에 초점을 맞춘 연구가 진행 되어지고 있다^{5,6)}. 성장인자들은 어떤 세포의 증식을 향상시키는 분열을 촉진하기도 하며, 표적 세포의 표현형을 변화시키는 형태발생에도 영향을 주기도 한다. 골에서 관찰되는 성장인자중 몇몇은 골세포에서 생성된다 (insuline like growth factor(IGF), transforming growth factor(TGF), fibroblast growth factor(FGF), platelet derived growth factor(PDGF)). 반면 몇몇은 골과 연관된 조직에서 생성된다(interleukin 1(IL-1), tumor necrosis factor α (TNF α)). 부가적으로 약간의 골유도 요소(bone inducing factor)가 있는데, 예를 들면, osteogenin, bone morphogenetic protein(BMP)등이 있다⁷⁻¹⁰⁾.

탈회된 골을 근육에 이식하게 되면 1주일안에 신생 연골이 생성된다는 것은 골기질안에 골유도물질이 존재한다는 것을 암시한다. 유도된 연골은 순차적으로 흡수되고 골로 대체되어 이소부위에 소골편이 형성되는데, 이러한 요소를 골형성 단백질(BMP)로 명명되어진다¹¹⁻¹⁵⁾. BMP가 여러 특징을 가지는 물질로 밝혀지고 cDNA로 클론화되었으며, cDNA에서 유추된 아미노산 나열로 TGF- β 계열의 일부로 밝혀졌다. 임플란트 매식후 그 주변골의 치유와 생성 과정에서의 BMP을 위한 mRNA의 표현을 RT-PCR로 연구되었으며, BMP유전자를 위한 세포유형은 Bone Gla Protein (BGP)mRNA의 표현형에 의해 밝혀졌고, 골형성과 치유에 관련되는 조골세포의 표지자이다¹⁶⁾.

본 연구에서는 임플란트와 골간의 치유기전에 BMP2와 BMP4가 중요한 역할을 담당한다는 가설하에 임플란트 매식후 골유착 기간동안 BMP2, BMP4의 발현되는지 여부와 일반적인 골치유시 발현되는 BMP2, BMP4의 발현양과 어떠한 차이를 보이는 지 여부를 비교 분석하고, 또한 임플란트의 표면거칠기가 증가함에 따라 이들 성장인자들이 어떻게 발현되는 지를 비교분석하여 골유착에 대한 분자생물학적 기전을 규명하고자 한다.

II. 대상 및 방법

1. 실험 동물 및 재료

체중 2.5 - 3 Kg의 가토 8마리를 암수 구별없이 실험동물로 사용하였으며 실온에서 동물용 고형사료와 물을 이용하여 일정기간 사육하였다. 치과 임플란트는 특별 제작 주문한 직경 3mm, 높이 5mm의 나선 형태의 동물실험용 임플란트(오스템, 한국)을 사용하였으며, Resorbable Blast Machined (RBM) surface, Machined surface 등 2가지 다른 표면구조를 가지고 있다.

2. 실험방법

1) 실험군(Experimental group)과 대조군(Control group)

실험군 (Experimental group):

R group: RBM surface 임플란트를 식립한 군

M group: Machined surface 임플란트를 식립한 군

대조군 (Control group):

직경 3mm, 높이 5mm의 외동만 형성한 군

각각의 실험군에서 한쪽의 경골부위에 RBM surface, Machined surface 임플란트를 매식하고 실험군 옆부위에 외동을 형성한 대조군을 형성하였다.

2) 수술방법

전신마취를 위하여 Ketamin HCL (Ketalar, 유한양행, 한국) 30mg/kg와 Xylazine HCL(Rompun, 바이엘코리아, 한국) 10mg/kg를 혼합하여 근육 주사 하였다. 가토를 앙와위로 고정하고 양측 경골 내측부를 제모한 뒤 베타딘 용액을 도포하여 소독하고 국소마취와 지혈목적으로 1:100,000 epinephrine을 함유한 2% lidocaine HCL(유한양행, 한국)을 피하 주사 하였다. 경골 내측부를 절개하고 층별바리를 통해 경골을 노출시킨 후 경골 관절면에서 1cm 하방에 machined surface 임플란트를 식립하였다(Fig. 1). 반대쪽을 같은 방법으로 수술하고 생리식염수로 깨끗이

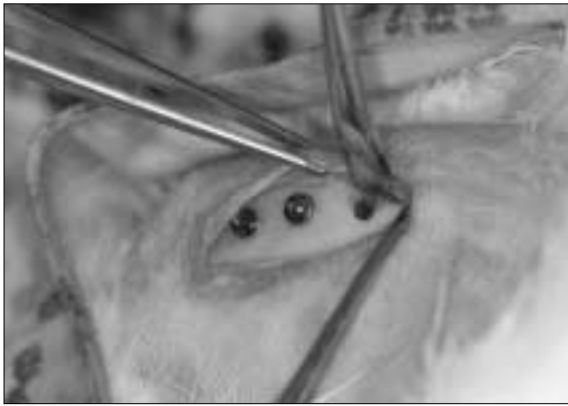


Fig. 1. Operation

Photograph shows 2 implants(RBM surface, machined surface) installed and bony defect.

세척한 뒤 3-0 흡수성 봉합사와 비흡수성 봉합사로 층별봉합한 뒤 모든 동물은 술후 감염예방과 저작곤란으로 인한 영양결핍을 방지하기 위하여 3일간 Gentamycin(20mg/kg)과 Beecom을 근육 주사 하였다.

3) 방사선 검사 및 조직학적 검사

수술후 3일, 7일, 14일, 28일 각 시기에 채취된 임플란트 식립부와 골결손부를 치과용 교합필름을 이용하여 일정거리하에서 65kvp, 7.5mA, 25msec의 조건하에서 촬영하여 방사선학적 사진촬영을 하였다(Fig. 2).

수술후 3일, 7일, 14일, 28일에 각 실험군에서 2마리씩 희생시켜 조직표본을 채취하였다(Table 1). 탈회표본제작을 위하여 채취한 임플란트 식립부 검체를 10% 중성 포르말린에 3일간 일차 고정 한 후 흐르는 물에서 세척하고 5% 포름산과 구연산 나트륨을 동량으로 희석한 탈회액에서 5

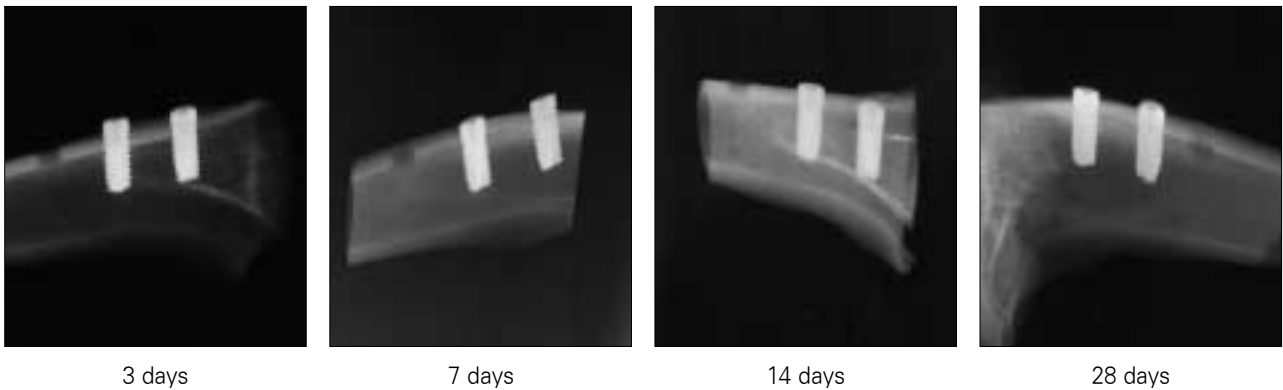
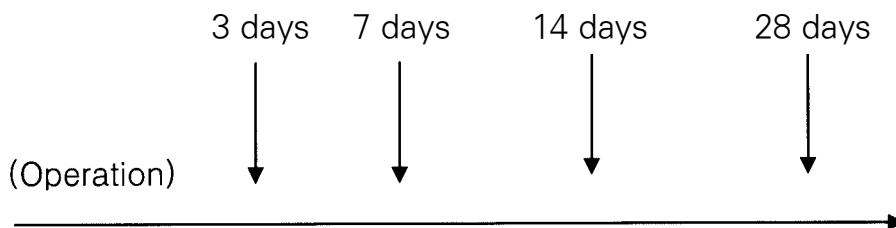


Fig. 2. Radiographic features

Radiographs show 2 implant and bony defect. There are not bony resorption, inflammation around the implants and radiopacity slightly increase in bony defect.

Table 1. Experimental Schedule



Experimental groups were sacrificed at 3rd, 7th, 14th and 28th days after operation

일간 탈회를 한다. 그후 조직을 조직캡슐에 넣어 흐르는 물에 12시간 동안 수세한 다음 glycolmethacrylate 레진 포매를 시행하였다. 임프란트를 포함하여 골을 절단 및 연마장치를 이용하여 최종적으로 두께 50 μm의 표본을 만들었다. 제작된 절편은 Harri's Hematoxylin을 여과지에 40분간 여과를 시행한 후 30분간 수세하고 Eosin 용액에 2분간 적용후 10분간 수세하여 H&E 염색을 시행한 후 광학현미경하에서 전반적인 조직학적 양상과 조직형태계측 프로그램(Kappa image base control 2.3.5, Olympus, Japan)을 이용하여 골유착 정도를 관찰하였다.

4) Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Analysis

수술 후 3일, 7일, 14일, 28일에 희생시킨 2마리의 좌측 경골부에서 R군, M군 임프란트를 각각 포함한 직경 7 mm 원통 형태의 골을 채취하여 실험군으로 하였고, 식립부에서 인접한 외동만 형성한 골을 채취하여 대조군으로 하였다. 이 골편들을 즉시 액화질소에 넣어 급냉시킨 뒤 막자사발에서 잘게 부수고 임프란트는 제거하고 Trizol (Invitrogen Co., USA)를 첨가한 후 1/10배의 chloroform으로 처리하여 상층을 분리하였다. 다음 동량의 isopropanol로 처리하여 pellets을 DEPC-70% ethanol로 씻은 후 건조시켜 DEPC-D/W에 녹였다. RNA는 260nm에서 흡광도를 측정 한 후 정량하여 reverse transcription reaction을 실시하고 그 반응액은 1×RT buffer(Promega, USA), 20μM dNTP, 0.25μg oligo(dT)₁₅primer, 5units AMV(Avian Myoblastosis Virus) reverse transcriptase(Promega, USA) 및 2μg RNA에 DEPC-D/W를 가하여 총량을 10μl로 한 뒤 42℃에서 60분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 RT product 5μl에 1×PCR buffer(Promega, USA), 10 pmol sense 및 antisense primer, 1 unit Taq polymerase 및 증류수를 가하여 총량을 25μl로 한 후 58℃에서 30분간 처리한 후 다시 92℃에서 15초, 60℃에서 30초, 72℃에서 30초간 30회 실시한 후 72℃에서 10분간 반응시켰다. 각 인자에 대한 sense primer와 antisense primer를 적용하였다(Table 2). PCR 반응이 종료된 검체들에서 각 산물을 5μl씩 취하여 6×loading buffer(0.25%

bromphenol blue, 0.25% xylene cyanol, 30% glycerol in water) 2 μl와 혼합하여 2% 한천 겔(agarose gel)에 100V에서 30분간 전기영동하고 ethidium bromide로 염색하여 자외선 투사기로 관찰한 다음 폴라로이드 카메라로 촬영하여 검사한다.

5) Quantitative analysis of PCR-product

각 군에서 발현된 성장인자들의 PCR-product 상을 스캔하여 Quantity one-4.4.1(Bio-RAD, USA) 프로그램을 이용하여 발현차를 비교분석하였다. 분석방법은 각각의 사진에서 나타난 가장 어두운 배경부분을 542, 가장 밝은 부분을 1106으로 설정하고 발현부에 대한 절대치를 구하여 각 시기별, 군간의 발현차를 분석하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 육안 및 방사선 검사

실험군의 RBM과 Machined surface임프란트 식립후 3일, 7일, 14일, 28일간의 육안 및 방사선 검사를 시행하였으며, 주변 연조직의 긴장으로 인한 열개현상, 매식체의 노출이나, 염증반응은 일어나지 않았으며, 경조직에서 골흡수 양상이나 동요도의 증가 등은 보이지 않은 상태였다. 방사선 검사에서 임프란트 주변으로 골 흡수로 보이는 소견은 보이지 않아서, 골유착이 되어짐을 확인할 수 있었다. 대조군의 외동형성군에서는 시간의 경과에 따라 골의 치유가 이루어졌으며, 방사선상에서도 골의 불투과성이 증가함을 확인할 수 있었다.

2. 조직형태계측학적 소견

실험군의 RBM, Machined surface임프란트 모두에서 주변의 성숙한 피질골과 골내에서 골유착을 보이고 있다. 모든 임프란트가 피질골부위의 상부 구조를 제외하고 피질골층에서 접촉되고 있었고, 골수내의 임프란트 나사산은 많은 골수 조직과 접촉을 이루고 있었다. RBM이 machined surface보다 골수내에서 더 많은 접촉을 이루고 있음을 확

Table 2. Primer Sequences

| Protein | Forward | Reverse | bp |
|---------|--------------------|----------------------|-----|
| BMP-2 | AGGTGTCTCCAAGAGACA | AGGTGTCTCCAAGAGACATG | 253 |
| BMP-4 | GCTGGCCATTGAGGTGAC | GAATGGCGACGGCAGTTC | 257 |

From: Morone: Clin Orthop, Volume(351). June 1998.252-65

인 할 수 있었다.

RBM군에서는 골과 임플란트의 접촉율(BIC)이 3일째 8%, 7일째 5%, 14일째 8%, 28일째에는 35%로 증가되었으며, Machined surface군에서는 3일째 5%, 7일째 6.2%, 14일째 6.6%, 28일째에는 24%으로 증가 추세로 나타났다. 두 군에서 골과 임플란트의 접촉율이 증가되는 양상을 보이고 있었으며, 표면의 거칠기가 높은 RBM이 machined surface 임플란트에 비해 28일째에 좀더 많은 접촉율을 보이고 있었다(Fig. 3).

3. RT - PCR 소견

RBM, Machined surface군, 와동을 형성한 군 모두에서 BMP2, BMP4의 발현이 있었다. BMP2는 RBM군에서 매식 후 3일에 발현이 되어 7일경에 약간의 감소를 보이나 14일과 28일경에는 증가되었으며, Machined surface군에서

도 매식 3일경에 발현되어 시간의 경과에 따라 증가와 감소 양상이 보이나 28일경에는 증가되었다. 와동을 형성한 군은 매식 후 발현되어 감소 경향을 보이나 28일경에는 증가하였다(Fig. 4). BMP4는 RBM군에서 매식 후 3일경에 발현되어 약간의 감소를 보이나 28일경에 발현량이 증가되어 나타났으며, Machined surface군에서는 발현되어 감소 경향을 나타냈다. 와동을 형성한 군에서는 발현되어 증가와 감소양상으로 진행되었으며, 28일경에는 초기에 비해 감소되는 경향을 보였다(Fig. 5).

결과적으로 BMP2와 BMP4 모두 실험군과 대조군에서 발현되었으나 실험기간동안 발현양상은 실험군에서는 시간이 지남에 따라 증가한 반면 대조군에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 실험군에서 표면의 차이에 따른 BMP2, BMP4의 발현 차이는 크지 않았으나 BMP4가 M군에 비해 R군에서 보다 증가된 발현현상을 보였다.

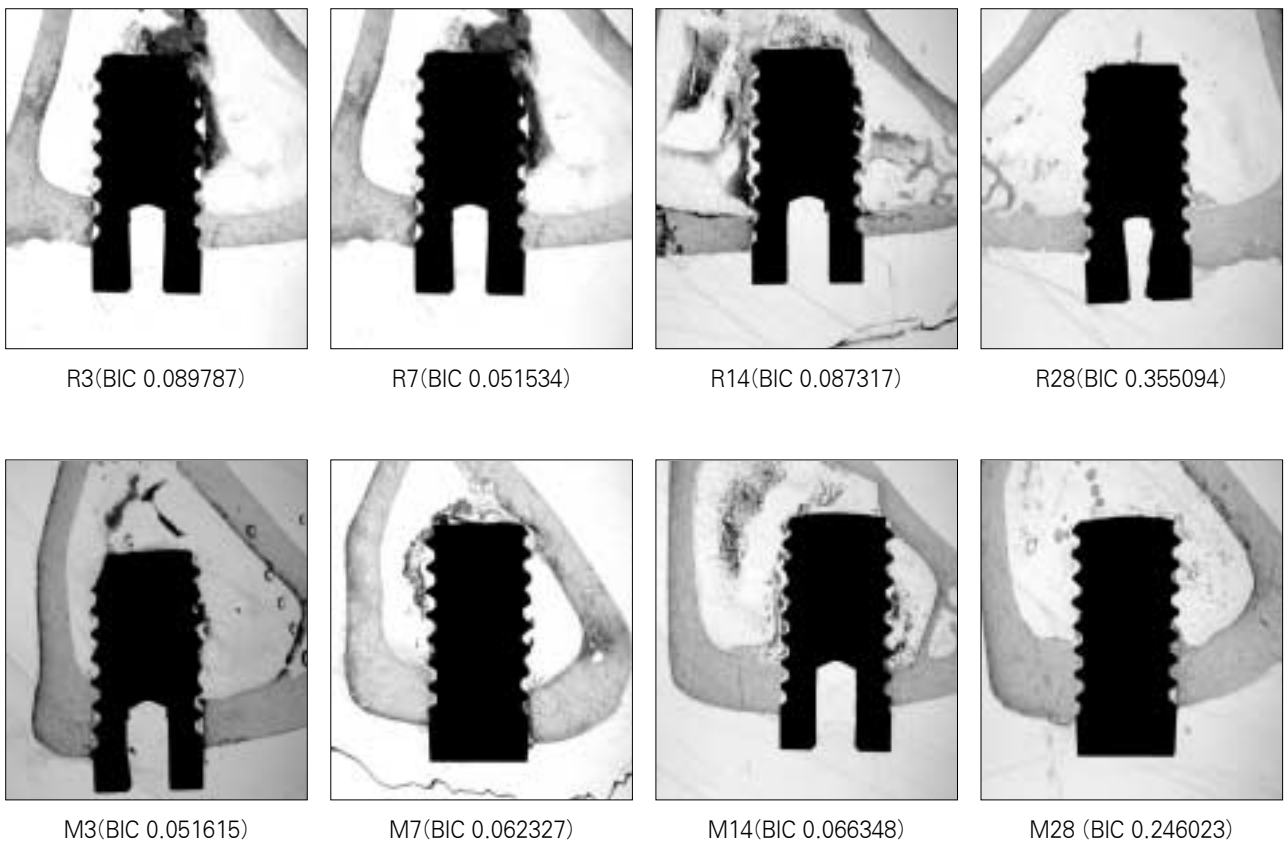


Fig. 3. Histomorphometric analysis

Bone-Implant Contact (BIC) is increased at each two group and RBM which has more roughness of surface has more BIC than machined surface implant on 28th days.



| | | | | |
|----------|------|------|-----|------|
| RBM | 935 | 897 | 958 | 1009 |
| Machined | 985 | 1007 | 946 | 1014 |
| Control | 1050 | 903 | 889 | 1053 |

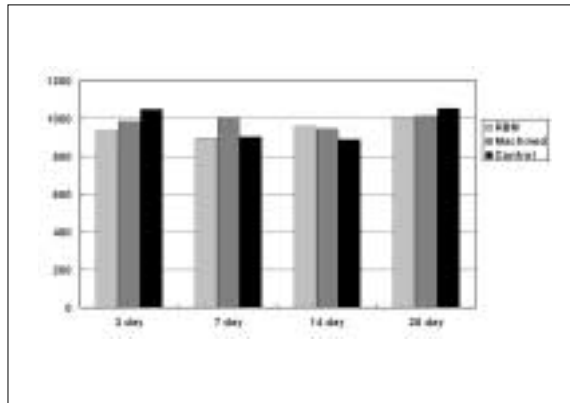


Fig. 4. Expression of BMP2

BMP2 of RBM group was expressed on 3rd days after placement and was decreased a little on 7th days, but was increased on 14th and 28th days. And, BMP2 of Machined surface group was expressed on 3rd days after placement and was increased and decreased as time goes by, but was increased on 28th days. Control group was expressed after placement and was decreased, but was increased on 28th days.



| | | | | |
|----------|-----|-----|-----|-----|
| RBM | 726 | 722 | 707 | 751 |
| Machined | 750 | 713 | 665 | 621 |
| Control | 726 | 633 | 697 | 679 |

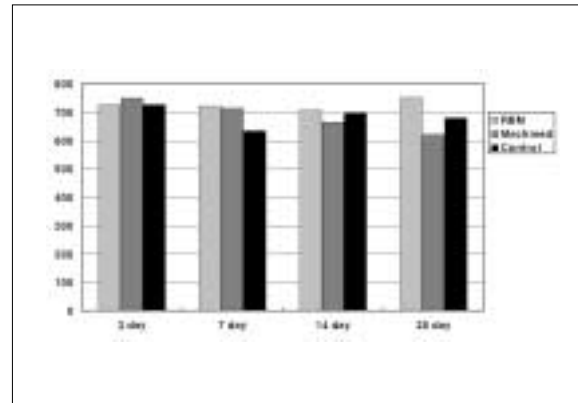


Fig. 5. Expression of BMP4

BMP4 of RBM group was expressed on 3rd days after placement and was decreased a little, but was increased on 28th days. BMP4 of Machined surface group was expressed on 3rd days after placement and was decreased as time goes by. BMP4 of control group was expressed on 3rd days after placement and was increased and decreased as time goes by and it was tendency to getting decreased on 28th days than the first time.

IV. 고 찰

임프란트와 골 사이의 접촉을 골유착 (osseointegration) 이라하며, 골유착을 하기 위한 금속(또는 비금속) 구조의 조건은 6가지 요인에 달려 있다. 즉, 만들어진 재료의 생체 친화성 (biocompatibility of the substance it is made), 임프란트의 구조 (design of the implant), 수술에 대한 준비 (preparation of the surgical defect to receive the implant), 외과적 술식 (surgical technique), 수술 후 상태 (postoperative condition), 인접 조직의 건강도 (the health of the adjacent tissue)라 할 수 있다¹⁷⁾.

본 연구에서는 골유착과 관련된 6가지의 요인들은 동일한 조건으로 판단하고 일반적인 골유착시 발생하는 골형성 인자를 밝히고 아울러 임프란트에서 표면처리 방법을 달리 했을 때 즉 RBM과 Machined surface의 임프란트에서 골유착시 이들 성장인자가 어떻게 달리 발현되는지를 규명하고자 하였다.

골의 치유과정에는 다양한 성장인자의 발현이 있으며, 이러한 성장인자중 골형성 단백질(BMP)은 많은 연구가 되어지고 있다. 최근의 연구에서는 골 형성 단백질(BMP)의 생화학과 생물학적 특징 그리고 아미노산의 배열 등이 연구되어지고 있다. 약 25개 정도의 변형된 골 형성 단백질(BMP)이 존재하며, 다양한 장기와 별레에서 인간에까지 발견된다. BMP는 비골형성 중배엽세포에서 연골과 골형성을 유도하는 기능을 가지고 있고 또한 골형성 기능을 조절하는 효과를 가진 다른 성장인자의 발현을 기시하는 역할을 하고 있다. 그밖에도 세포의 농도차에 따라 세포의 무수한 반응을 조절하는 것으로 보고되어졌다. 즉 고농도에서는 세포분화와 골형성 기능을 나타내며 저농도에서는 화학주성, 세포 증식기능을 나타낸다. 이러한 특성 때문에 과거부터 관심의 대상이 되었으며 치과분야에서는 골절치유, 치조골 결손, 임프란트 등의 분야에서 많이 연구되어져 왔다. 또한 골유도작용을 위한 치료약물로 사용가능 여부에 대해 연구되어져 국소적인 BMP 투여를 통해 골형성 증진여부를 알아보

고자 하는 연구가 많이 시행되어졌다^{18,19}. 아울러 분자생물학의 발전으로 세포수준에서의 연구가 활발해지면서 골절시 골치유나 신연 골형성술 (distraction osteogenesis)시 골형성이 일어날 때 세포수준에서 어떠한 기전에서 골형성이 일어나는 지 알아보고자 하는 연구가 진행되어 Nakase 등은 백서의 늑골 골절시 골치유와 관련하여 BMP 4의 발현을 연구하여 BMP4는 골치유시 2일경에 섬유아세포와 유사한 세포들이 골치유 부위에 나타남을 확인하고 가골형성(callus formation)전에 주로 발현된다고 주장하였다²⁰. 이러한 연구들을 통해 BMP는 골치유에 중요한 역할을 담당하는 것으로 이해되어지고 있으며 실제 임상에서도 국소적 투여를 통해 골결손부위나 임플란트 치료시 골형성을 증진시킬 목적으로 상당 부분 연구되어지고 있다.

그러나 임플란트와 관련하여 골유착시 BMP가 어떻게 발현되고 어떠한 작용을 하는지에 대한 연구는 시도된 바가 없으며 단지 rh-BMP투여를 통해 골유착을 증진시키려는 연구만이 시도되었다. 본 연구는 실제 골유착시 BMP가 발현되는 지 여부를 알아보고자 하는 실험으로 가토의 경골에 임플란트를 식립후 3일, 7일, 14일, 28일경에 BMP2, BMP4의 발현을 확인하였다. 이는 골유착 증진방법으로 BMP 투여에 대한 이론적 근거를 확립하였다고 할 수 있다. 즉 골유착시 외인성 BMP를 투여하여 BMP 작용을 증가시키면 골유착 효과가 증진될 수 있다는 것을 암시한다. 시기와 관련하여서 BMP는 골유착 기간동안 계속적으로 발현되어 임플란트가 골에 안정화될 때까지 중요한 역할을 담당하는 것으로 여겨진다. 이는 본 연구에서 28일 쯤에도 초기와 유사한 발현을 보이는 것으로 알 수 있다. 또한 일반적인 골결손부의 골치유와 관련하여 골유착 기전 역시 큰 차이 없이 이러한 BMP의 발현을 통하여 골치유가 일어나는 것으로 생각되며 본 연구에서 대조군과 발현차이에서도 큰 차이를 보이지 않았다. 비록 다른 성장인자들에 대한 연구가 같이 시행되어지지는 않았지만 향후 BMP와 연관되어 다른 성장인자들의 발현에 대한 연구가 추가적으로 시행되면 골유착에 관여하는 분자생물학적 기전(molecular mechanism)이 많은 부분 이해될 것으로 사료된다.

본 연구에서는 부가적으로 표면거칠기에 따른 골유착 효과의 차이를 성장인자의 발현차이로 규명하려고 하였다. 일반적으로 재료의 특성 즉, 표면 에너지, 표면 거칠, 지형도(topography)가 임플란트와 조직간 경계면에 중요한 역할을 한다고 믿어짐에도 불구하고, 임플란트 주위의 골치유의 순차적 단계는 표면 자체 보다는 표면에 부착되어 있는 세포에 의해 좌우된다. 골 형성의 과정과 조절은 호르몬의 다양성, cytokines, 성장 인자를 포함한다. 타이타늄 표면의 거칠기는 골아세포에 의한 국소적 성장 인자와 cytokines의 생성에 영향을 준다. 그리고 표면을 더욱더 거칠게 함으로써 이러한 기질상에서 세포의 형태를 더욱 분화시키는 것

과 관련이 있을 것으로 여겨진다. 이처럼 임플란트 표면 거칠기가 증가함에 따라 골과의 유착도 증가한다는 것은 보고되어진 바가 있으며, 이것은 임플란트 표면의 미세거칠기와 주변 조직과의 단순한 기계적 결합으로 설명되어 진다. 조직학적 면에서도 매끄러운 표면에 비해 거친 표면에서 골의 생성이 증가되어짐을 확인되었으며, 이는 거친 표면의 생체역학의 증가됨을 뒷받침하는 것이다²¹⁻²⁵. 본 연구에서는 RBM과 machined surface을 가진 타이타늄 임플란트를 이용하였는데, 표면이 거친 RBM surface(35%)가 machined surface(24%)보다 임플란트와 골과의 접촉률에 있어서는 더 높았다. 이는 표면이 거칠수록 더 임플란트 주변의 골형성이 증진된다는 다른 연구와 일치하는 결과이다. 성장인자 발현 측면에서 BMP2와 BMP4의 발현이 표면이 거칠수록 더 많이 발현될 것으로 예상하였으나, BMP2, BMP4 모두 큰 차이를 보이지는 않았지만 주로 RBM에서는 초기의 발현양보다 계속적으로 증가하는 소견을 보였고 machined surface는 다소 불규칙적인 발현양상을 보였다. BIC에서도 초기보다는 골유착이 진행될수록 차이가 나타나는 소견을 보였는데 이는 아마도 골유착이 진행될수록 BMP2, 4의 발현이 RBM에서 계속 증가되기 때문인 것으로 여겨진다. 즉 표면거칠기에 따른 효과는 초기에 비슷한 양의 BMP가 발현되면서 유사한 골유착이 일어나지만 시간이 지날수록 거친표면에서 좀 더 많은 BMP가 발현되면서 골유착 효과가 증진되는 것으로 설명된다. 이에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각되며 또한 다양한 표면 거칠기의 임플란트의 비교연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

RBM, Machined surface 임플란트가 피질골부위의 상부 구조를 제외하고 피질골층에서 접촉되고 있고, 골수내의 임플란트 나사산은 많은 골수 조직과 접촉을 이룬다. RBM이 machined surface보다 골수내에서 더 많은 접촉을 이루고 있으며, 두군에서 골과 임플란트의 접촉율이 증가되는 양상을 보인다. 보다 표면의 거칠기가 높은 RBM이 machined surface 임플란트에 비해 좀더 많은 접촉율을 보이고 있다.

BMP2와 BMP4 모두 실험군과 대조군에서 발현되었으나 실험기간동안 발현양상은 실험군에서는 시간이 지남에 따라 증가한 반면 대조군에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 실험군에서 표면의 차이에 따른 BMP2, BMP4의 발현 차이는 크지 않았으나 BMP4가 machined surface 비해 RBM surface에서 보다 증가된 발현상을 보였다. 결론적으로 임플란트 골유착시 BMP2, BMP4는 골유착에 중요한 역할을 하는 성장인자로 특히 임플란트 표면거칠기가 증가할수록 이들 성장인자들의 작용이 증가하는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Clokie ML, Warshawsky H : Morphogenic and radioautographic studies of bone formation in relation to titanium implants using the rat tibia as a model. *Int J Oral Maxillofac Implants* 10 : 1, 1995.
2. Ysander M, Branemark R, Olmarker K et al : Intramedullary osseointegration: Development of a rodent model and study of histology and neuropeptide changes around titanium implants. *J Rehab Res Develop* 38 : 183, 2001.
3. Fiorellini JP, Buser D, Riley E et al : Effect on bone healing of bone morphogenetic protein placed in combination with endosseous implants: A pilot study in beagle dogs. *Int J Periodont Rest Dent* 21 : 41, 2001.
4. Won MK, Chang KS, Kim YS et al : An experimental study of newly designed implant with RBM surface in the rabbit tibia: resonance frequency analysis and removal torque study. *J Kor Acad Prothodont* 4 : 720, 2003.
5. Lian JB, Stein GS : The developmental stages of osteoblast growth and differentiation exhibit selective responses of genes to growth factor(TGF β 1)and hormones(Vitamin D and glucocorticoids). *J Oral Impl* 19 : 95, 1993.
6. Clokie ML, Bell RC : Recombinant human transforming growth factor β -1and its effects on osseointegration. *J Craniofac Surg* 14 : 268, 2003.
7. Koka S, Vance JB, Maze GI : Bone growth factors: Potential for Use as an Osseointegration Enhancement Technique(OET). *J West Soc Periodontol Periodontal Abstr* 43 : 97, 1995.
8. Buser D, Dahlin C, Schenk RK : Guided bone regeneration in implant dentistry, 1996, p67.
9. Sela J, Gross UM, Kohavi D et al : Primary mineralization at the surfaces of implant. *Crit Rev Oral Biol Med* 11 : 423, 2000.
10. Schliephake H : Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31 : 469, 2002.
11. Hunt DR, Jovanovic SA, Wikesjo UME et al : Hyaluronan supports recombinant human bone morphogenetic protein-2 induced bone reconstruction of advanced alveolar ridge defects in dogs. A pilot study. *J Periodontol* 72 : 651, 2001.
12. Marukawa E, Asahina I, Oda M et al : Functional reconstruction of the non-human primate mandible using recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31 : 287, 2002.
13. Geiger M, Li RH, Friess W : Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2. *Adv Drug Deliv Rev* 55 : 1613, 2003.
14. Saito E, Saito A, Kawanami M : Favorable healing following space creation in rhBMP-2-induced periodontal regeneration of horizontal circumferential defects in dogs with experimental periodontitis. *J periodontol* 74 : 1808, 2003.
15. Wildemann B, Kandziora F, Krummrey G et al : Local and controlled release of growth factors(combination of IGF-I and TGF-beta I, and BMP-2alone)from a polyactide coating of titanium implants does not lead to ectopic bone formation in sheep muscle. *J Control Release* 95 : 249, 2004.
16. Nakase T, Nomura S, Yoshikawa H et al : Transient and Localized Expression of Bone Morphogenetic Protein 4 Messenger RNA During Fracture Healing. *J Bone Miner Res* 9 : 651, 1994.
17. Luger GG, Caparbo VF, Guzzo ML et al : Histomorphometric evaluation of titanium implants in osteoporotic rabbits. *Implant Dent* 9 : 303, 2000.
18. Matin K, Nakamura H, Iris K et al : Impact of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on residual ridge resorption after tooth extraction: An experimental study in the rat. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16 : 400, 2001.
19. Schliephake H : Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31 : 469, 2002.
20. Nakase T, Nomura S, Yoshikawa H et al : Transient and Localized Expression of Bone Morphogenetic Protein 4 Messenger RNA During Fracture Healing. *J bone Miner Res* 9 : 651, 1994.
21. Kieswetter K, Schwartz Z, Hummert TW et al : Surfaces roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells. *J Biomed Mater res* 32 : 55, 1996.
22. Schwartz Z, Kieswetter K, Dean DD et al : Underlying mechanisms at the bone-surface interface during regeneration. *J periodont Res* 32 : 166, 1997.
23. Spyrou P, Papaioannou S, Hampson G et al : Cytokine release by osteoblast-like cells cultured on implant discs of varying alloy compositions. *Clin Oral Impl Res* 1 : 623, 2002.
24. Ogawa T, Sukotjo C, Nishimura I : Modulated bone matrix-related gene expression is associated with differences in interfacial strength of different implant surface roughness. *J prosthodont* 11 : 241, 2002.
25. Schneider GB, Perinpanayagam H, Clegg M et al : Implant surface roughness affects osteoblast gene expression. *J Dent Res* 82 : 372, 2003.

저자 연락처

우편번호 442-060
 경기도 수원시 팔달구 지동 93
 가톨릭대학교 성빈센트병원 치과
 지 유 진

원고 접수일 2004년 12월 15일
 게재 확정일 2005년 2월 24일

Reprint Requests

Yu-Jin Jee
 Dept. of Dentistry, St. Vincent's Hospital, The Catholic Univ. of Korea, 93 Ji-Dong, Paldal-Ku, Suwon, 442-060, Korea
 Tel: 82-31-249-7670 Fax: 82-31-258-3352
 E-mail: omsjy@kornet.net

Paper received 15 December 2004
 Paper accepted 24 February 2005