

골과 임플란트 접촉면의 조직학적 연구

안산1대학 임상병리과

김 주 성

Histological Study on the Interface of Bone and Implant

Ju-Sung Kim

Department of Clinical Pathology, Ansan 1 College, Ansan 426-701, Korea

This paper reports the morphological nature of the remodelled interface process between implants and surrounding bone after 1, 4, 6, 8 and 12 weeks of implantation of smooth machined implants into rat tibias. After 4 weeks of implantation, histochemical analysis showed that the new bone was growing in direct contact with the implant. In the forming process, the activated osteoblast cells migrated toward the interface and colonized the surface at the contact areas. This immature woven bone, rich in osteocyte lacunae, was deposited directly onto the implant surface. Osteoblast activity was found to continue till 12 weeks of implantation. The osteoblasts in lacunar areas developed numerous processes and synthesized bone matrix, after all, surrounded by secreting matrix. At the 12th week, the amount of newly formed bone matrix between bone and implant increased in mineralization. The mineralized mature bone contained well organized collagen fibers with characteristic banding pattern bone tissue formation around the implant.

Key Words : Implant, Osteoblast, Osteocyte lacunae, Mineralization, Collagen fiber

I. 서 론

임플란트 표면 기술의 발전은 임상에서 보다 나은 효과적 치료 결과와 예지성이 높은 임플란트 시술치료를 가능하게 하였다. 임플란트 재료 표면의 특성은 임플란트 주변조직의 치유와 성장에 영향을 미친다. 따라서, 1960년대 후반에 골조직과 순수 티타늄(c.p. titanium)에 관한 연구가 진척되면서 골과 임플란트의 직접 접촉을 의미하는 유착(osseointegration)관계에 대하여 조직형태학적으로 많은 관심을 갖게 되었다(Albrektsson 등, 1990; De

Maestu 등, 2003). 임플란트와 골 유착을 위한 6가지 요인, 즉 생체적합성, 표면성상, 디자인, 매입상의 상태, 외과적 테크닉, 하중조건 등이 제시되어 왔다(Albrektsson 등, 1981).

순수티타늄 이외의 다른 금속 모두 골과 접촉되지만 티타늄과 골의 접촉율은 다른 금속보다 높은 것으로 나타났다. 이것은 다른 금속의 이온누출이 골조직에 수용되지 않기 때문인 것으로 보고된 바 있다(Sennerby 등, 1992).

임플란트에 대한 연구는 다양한 종류의 표면처리와 골 유착 및 안정성에서 뛰어난 임플란트 표면을 개발하여 임상적인 성공률을 높이려는 시도가 지속되고 있다. 따라서, 임플란트 표면 거칠기와 코팅 및 화학적 처리 등을

교신저자 : 김주성, (우)426-701 경기도 안산시 상록구 일동 752번지, 안산1대학 임상병리과
Tel : 031-400-6936
E-mail : jskim@ansan.ac.kr

통하여 임플란트의 골유착을 안정시키는 연구가 계속되고 있다 (De Leonardis, 1999; Cook 등, 2002).

본 연구는 현재 임상에서 시술되고 있는 임플란트 종류 중에 하나인 선반가공 (smooth machined, SM) 임플란트를 토끼의 경골에 식립하고 1주, 4주, 8주, 12주 간격으로 조직을 절취하여 골과 임플란트의 유착정도를 조직화학적으로 규명하여 보다 훌륭한 임플란트 시술에 도움을 주고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 동물의 희생 및 조직표본의 제작

가토에 선반가공 임플란트를 각각 이식 후 1주, 4주, 8주, 12주가 경과한 다음 thiopental sodium을 정맥내 주사하여 희생시켜서 임플란트와 인접조직을 포함한 대퇴골을 적출한 뒤 10% 중성 포르말린에 담가 3일 이상 고정시켰다. 고정이 끝난 조직은 임플란트 정중부를 중심으로 약 10 mm 두께로 절단하고 알코올 농도 상승 순 (70%, 80%, 90%, 95%, 100%)으로 탈수시킨 다음 아세톤으로 치환하여 supured low viscosity media (Polyscience Inc, USA)로 포매하였다. 포매된 블록은 Donath (1990)의 방법에 따라 Exakt Cutting & Grinding System (Exakt-Apparatebau, Germany)을 이용하여 임플란트 장축 방향에 평행하게 절단하고 Exakt micro-grinding machine 상에서 800, 1200, 2500, 4000 grit의 사포를 차례로 사용하여 최종 두께가 20 μ m 이하가 되도록 연마하여 비탈회 표본을 제작하였다.

2. 조직 표본의 Masson's trichrome 염색

신생골 조직에서 골기질의 콜라겐 성분의 축적을 확인하기 위하여 제작된 각각의 표본을 부왕용액 (Bouin's solution)에서 6시간 매염시켰다. 매염된 표본은 70% 알코올에서 피크르산을 제거한 후 수세하였다. 수세가 끝난 표본은 Weigert's iron hematoxylin 용액으로 핵 염색한 다음 Biebrich scalet-acid fuchsin 용액과 phosphomolybdic acid-phosphotungstic acid 용액 및 aniline blue 용액으로 처리하여 세포질 및 조직성분을 염색하였다. 염색이 끝난 표본은 탈수, 투명, 봉입과정을 거쳐 광

학현미경으로 관찰하였다.

III. 결 과

선반가공 임플란트를 매식 후 1주일 이 경과된 조직표본에서 골은 나사의 홈부위에서 절단되어 있었고, 조직이 채워지지 않은 홈에는 출혈 현상으로 인한 혈액과 세포성분들이 채워져 있었다 (Fig. 1). Fig 1을 다시 확대한 결과 골과 금속 접촉면에는 많은 간극이 있는 것이 확인되었으며, 응고된 혈액, 즉 혈종 (hematoma)과 골조직 부스러기들이 관찰되었다 (Fig. 2). 임플란트는 생체조직이 아니기 때문에 생체의 이물질 제거반응을 일으키는 과정이 진행된다. 임플란트를 이물질로 인식하여 염증이 일어나게 되면 이물질 제거반응이 신속하게 일어나게 된다. 그러나 본 연구에서는 임플란트 주위에 응고혈액은 발견되었으나 섬유화가 진행되는 염증반응은 관찰되지 않았다.

매식 후 4주가 경과된 조직표본에서 골과 임플란트가 접해서 응고현상이 일어난 부위는 다수의 골모세포가 활성화되어 신생골로 채워지는 것을 확인하였으며, 신생골과 기존골 사이에 반전선이 뚜렷하게 관찰되었다. 광학현미경상에서 빈 공간으로 관찰되는 부위에 대한 이들 부위는 섬유모세포에서 분비되는 미성숙한 콜라겐들이 채워지기 시작하였으며 Masson's trichrome 염색에서 이들 콜라겐 성분은 청색을 띄었고 나머지 세포성분들은 적색을 띄었다 (화살표 부분, Fig. 3, 4).

8주가 경과된 조직표본을 관찰한 결과 신생된 골 조직에는 많은 수의 골모세포들이 관찰되었고, 임플란트와 접한 면에도 골모세포에 의해서 생성된 골기질이 금속 경계면과 접촉하여 나타났다. 그러나 일부 금속면은 골조직과 떨어져 있는 상태로 관찰되었다. 또한 골기질의 재흡수 및 손상부위의 기질화가 진행되면서 8주가 경과된 조직에서는 파괴된 뼈의 재흡수 및 재형성이 진행되었으며, 금속 접촉면에 부서진 골조직은 관찰되지 않았으나 일부에 골의 형성이 지연되어 접촉되지 않은 부위가 관찰되었다 (원 부분). 그리고 골수에 노출되어있는 부위의 나사 홈에도 골수조직이 채워져 있는 것이 확인되었다. 한편 임플란트 조직표본을 관찰한 결과 광화된 골기질은 임플란트 주변 골조직에서 지속적으로 발견되지는 않았지만 혈관이 신생되어 들어오면서 하버스관 (Haversian canal)이 생성된 것을 볼 수 있었다 (Fig. 5, 6).

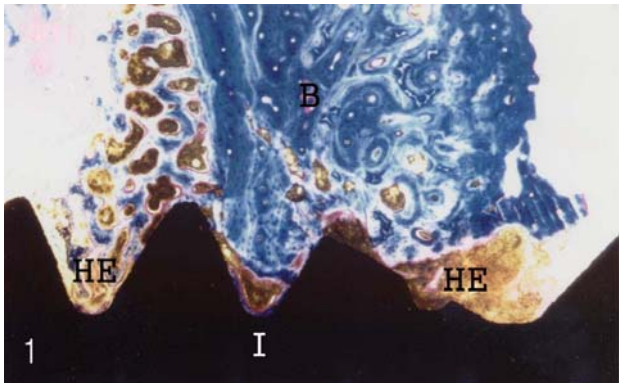


Fig. 1. The trichrome interface cross section of smooth machined implant-bone stained after 1 week implantation showing red blood cell by hemorrhage. HE: hematoma, B: bone tissue, I: implant (100X).

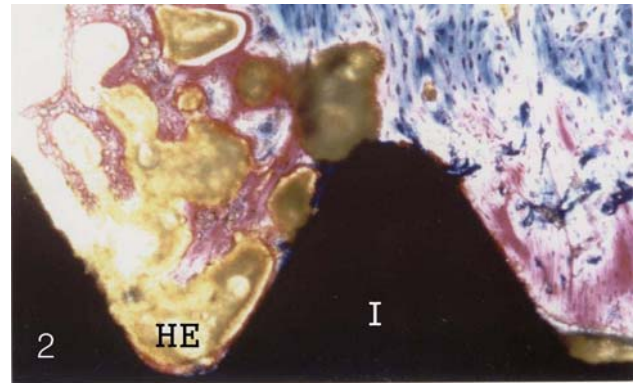


Fig. 2. The trichrome stained cross section of smooth machined implant-bone interface after 1 week implantation showing red blood cell by hemorrhage. HE: hematoma, B: bone tissue, I: implant (200X).

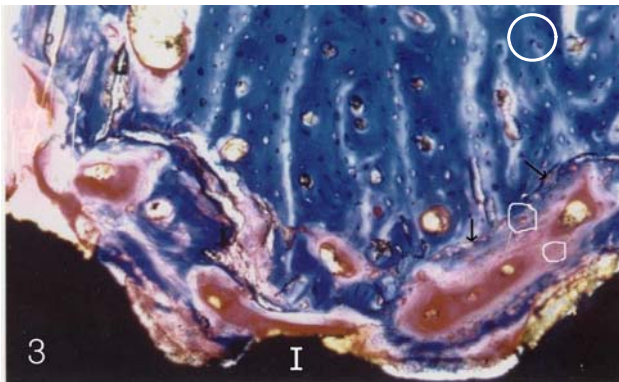


Fig. 3. At 4 weeks implantation. The interface zone containing remodelled bone tissue. New osteoblast (circles) can be seen around the implant. Arrows: reversal line, I: implant (200X).

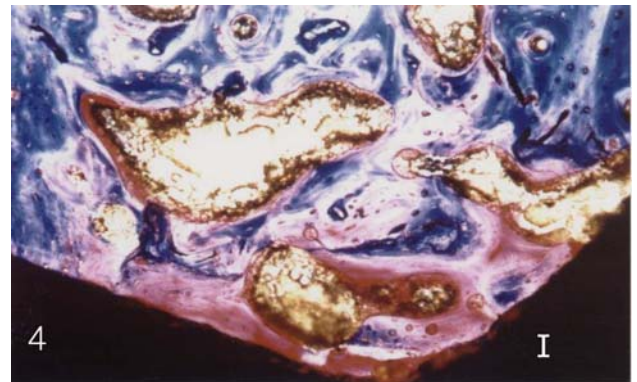


Fig. 4. At 4 weeks implantation. The interface zone containing remodelled bone tissue. New osteoblast (circles) can be seen around the implant. Arrows: reversal line, I: implant (400X).

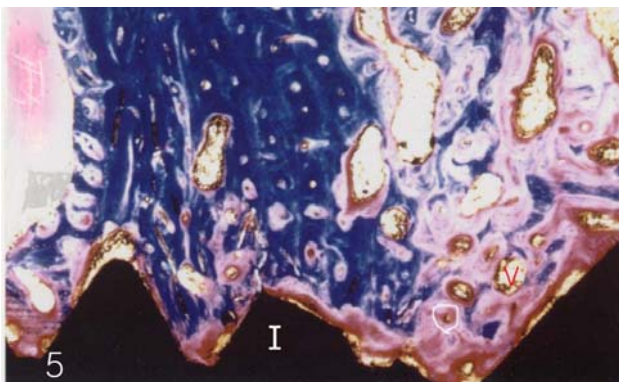


Fig. 5. Smooth machined implant at 8 weeks. New bone formation can be seen in intimate contact with the threads. Note the portion of interface between implant and bone tissue were separated. Circles : Haversian canal, I: implant, V: vessel (200X).

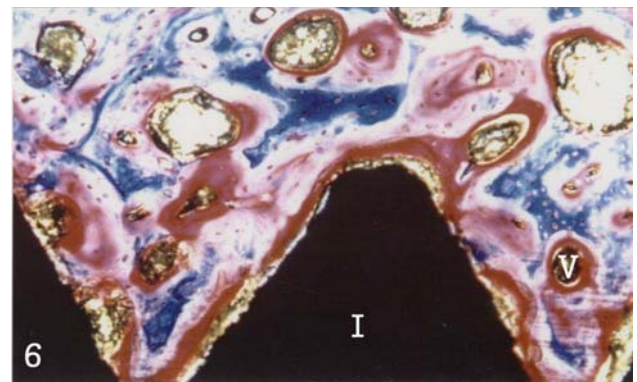


Fig. 6. Smooth machined implant at 8 weeks. New bone formation can be seen in intimate contact with the threads. Note the portion of interface between implant and bone tissue were separated. Circles : Haversian canal, I: implant, V: vessel (400X).

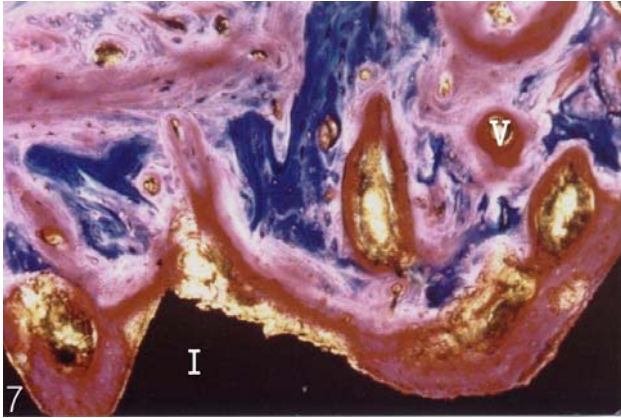


Fig. 7. At 12 weeks implantation. There is mature bone around the implant surface. It is possible to observe new compact bone with few spaces, the newly formed bone tissue are separated by slightly gap from the implant. V: vessel, I: implant (200X).

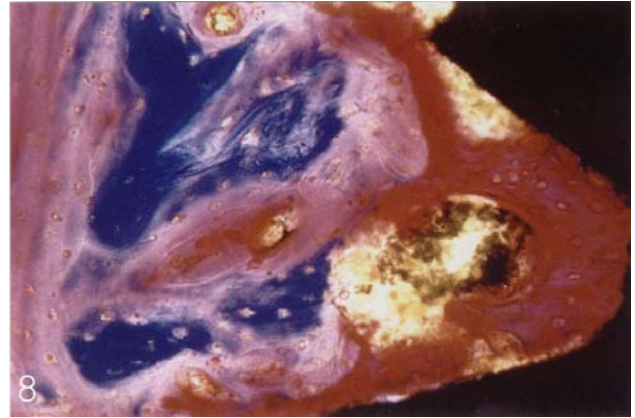


Fig. 8. At 12 weeks implantation. There is mature bone around the implant surface. It is possible to observe new compact bone with few spaces, the newly formed bone tissue are separated by slightly gap from the implant. V: vessel, I: implant (400X).

12주가 경과된 조직표본을 관찰한 결과 골기질이 새로 형성되어 금속접촉면에 부착된 것을 확인할 수 있었다. 그러나 일부는 접촉면이 불연속적으로 나타나 보였다 (Figs. 7, 8). 신생골에서 콜라겐이 생성되어 축적된 곳에서는 aniline blue에 의해 청색으로 염색되어 있고, 세포의 활성이 강한 세포들은 적색으로 진하게 염색되는 것을 확인할 수 있었다. 골기질은 임플란트의 나사선을 따라 채워져 있는 것을 볼 수 있었다. 또한 하버스관을 중심으로 골소강의 층상배열이 이루어지면서 형성된 하버스계와 무기질의 침착에 의해서 광화(mineralization)된 골기질을 확인할 수 있었다.

IV. 고 찰

인조규회석(pseudowollastonite) 임플란트를 토끼 경골에 매식한 후 3주일이 경과된 표본의 조직 형태학적 연구에서 미성숙한 뼈조직이 임플란트를 둘러싸고 있으며 이들 조직은 골세포소강(osteocyte lacunae)이 잘 발달된 미성숙한 가성골(woven bone)로 임플란트 표면에 직접 접촉되어 있다고 보고된 바 있다(De Aza 등, 2000). 본 연구에서 이 시기에 임플란트와 골의 접촉면은 골조직의 파괴와 재흡수가 일어나는 과정으로 일부 부서진 조직의 임플란트 접촉면은 빈 공간이 관찰되었다. 광학현미경상에서 빈 공간으로 관찰되는 이들 부위는 섬유 모세포에서 분비되는 미성숙한 콜라겐들이 채우기 시작하였으며 Masson's trichrome 염색에서 이들 콜라겐 성분은 청색을

띄었고 나머지 세포성분들은 적색을 띄었다. De Aza 등(2001)의 인조규회석을 토끼의 경골에 매식한 후 골과 금속 접촉면에서 두 종류의 서로 다른 유형의 골조직이 형성되기 시작하였다는 보고에 비해, 임플란트에 가까운 부위에서는 가성골(woven bone)의 형태가 형성됨을 발견하였고, 성숙골은 임플란트 매식 후 초기단계에 변형된 부위에서 형성됨을 발견하였다. 반면, 성숙골은 성숙된 교원섬유를 포함하고 있으며 미성숙골에서는 이런 구조가 관찰되지 않았다는 보고도 있다.

본 연구 중 8주가 경과된 조직표본을 관찰한 결과 신생된 골 조직에는 많은 수의 골모세포들이 관찰되었고, 임플란트와 접한 면에도 골모세포에 의해서 생성된 골기질이 금속 경계면과 접촉하여 나타났다. 그러나 일부 금속측면은 골조직과 떨어져 있는 상태로 관찰되었다. 또한 골기질의 재흡수 및 손상부위의 기질화가 진행되면서 8주가 경과된 조직에서는 파괴된 뼈의 재흡수 및 재형성이 진행되었으며, 금속 접촉면에 부서진 골조직은 관찰되지 않았으나 일부에 골의 형성이 지연되어 접촉되지 않은 부위가 관찰되었다. 그리고 골수에 노출되어있는 부위의 나사홈에도 골수조직이 채워져 있는 것이 확인되었다. 한편, 임플란트 조직표본을 관찰한 결과 광화된 골기질은 임플란트 주변 골조직에서 지속적으로 발견되지는 않았지만 혈관이 신생되어 들어오면서 하버스관이 생성된 것을 볼 수 있었다.

치과용 임플란트를 둘러싸는 골조직의 재생은 다양한 임플란트의 표면구조에 의해서 영향을 받는다(De Leonardis 등, 1999; Lazzara 등, 1999; Marinho 등, 2003).

본 연구에 사용된 선반가공 임플란트의 나사면은 매끄러운 표면을 가지고 있다. 임플란트 표면적의 증가는 골과 임플란트의 결합을 강화시켜준다 (Trisi 등, 2002, 2003). 즉, 불규칙한 임플란트 표면은 임플란트에 인접해 있는 골세포에 영향을 미치고 세포들의 증식과 분화를 증가시키는 것을 의미하지만, 분사 (sandblasting) 입자의 굵기에 따라 차이가 있다. 임플란트 표면 거칠기는 분사와 식각 (etching)과 같은 식으로 갈아내는 방법과 도포 (spraying)와 피복 (coating)과 같이 부가하는 방법으로 만들 수 있다. 분사 표면은 공기와 연마제를 일정 압력하에서 일정 시간동안 뿌려서 만드는데 연마제로 사용되는 산화알루미늄 (Al_2O_3)의 직경은 25-250 μm 인데 입자의 직경이 중요한 역할을 한다. 250 μm 크기의 입자로 분사된 표면을 가지고 있는 임플란트보다 25 μm 로 분사된 표면을 가지고 있는 임플란트가 골과 임플란트 접촉 비율이 더 크다고 보고된 바 있으며, 염증성 반응도 입자가 큰 연마제로 분사한 임플란트의 사용에서 많이 일어난다고 보고된 바 있다 (Piattelli 등, 2002).

또한 Wenerberg 등 (1996)은 선반가공과 분사 임플란트에 골의 직접 접촉비율을 조사한 결과 분사표면의 임플란트가 선반가공 임플란트보다 세포 접촉 비율이 높다고 보고하였다. 본 연구에서 12주가 경과된 조직표본을 관찰한 결과 골기질이 새로 형성되어 금속 접촉면에 부착된 것을 확인할 수 있었다. 그러나 일부는 접촉면이 불연속적으로 나타나 보였다. 신생골에서 콜라겐이 생성되어 축적된 곳에서는 aniline blue에 의해 청색으로 염색되어 있고, 세포의 활성이 강한 세포들은 적색으로 진하게 염색되는 것을 확인할 수 있었다. 골기질은 임플란트의 나사선을 따라 채워져 있는 것을 볼 수 있었다. 또한 하버스관을 중심으로 골소강의 층상배열이 이루어지면서 형성된 하버스계와 무기질의 침착에 의해서 광화된 골기질을 확인할 수 있었다.

V. 결 론

본 연구에서는 토끼 경골에 선반가공 임플란트를 매식한 후 1주, 4주, 8주, 12주가 경과한 다음 적출하여 임플란트와 골조직 사이 접촉면의 조직학적 특성을 관찰하였다. 4주가 경과한 후 신생된 뼈조직은 임플란트와 접촉되어 있었고, 뼈가 형성되는 과정에서 골모세포는 임플란트와 접촉부위에서 집중적으로 관찰되었다. 미성숙한 가골

에는 많은 골소강이 관찰되었고, 이들은 임플란트와 접해서 존재하였다. 골모세포는 임플란트를 매식후 12주가 경과한 후 활성화되어 지속적으로 골기질을 합성하였으며, 골기질에 둘러싸이기 시작하였다. 그리고 새롭게 형성된 골은 광화되었다. 임플란트에 접해있는 광화된 골조직에는 잘 발달된 교원섬유가 분포하고 있었다.

참 고 문 헌

1. Albrektsson T, Branema PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 55:155-170, 1981
2. Albrektsson T, Sennerby L. Direct bone anchorage of oral implants. Clinical and experimental considerations of the concept of osseointegration. *Parodontol* 1:307-320, 1990
3. Cook SD, Salkeld SL, Patron LP, Sargent MC, Rueger DC. Healing course of primate ulna segmental defects treated with osteogenic protein-1. *J Investigative Sur* 15:69-79, 2002
4. De Aza PN, Luklinska ZB, Martinez A, Anseau MR, Guitian F, De Aza S. Morphological and structural study of pseudowollastonite implants in bone. *J Microsc* 197:60-67, 2000
5. De Aza PN, Luklinska ZB, Anseau MR, Guitian F, De Aza S. Transmission electron microscopy of the interface between bone and pseudowollastonite implant. *J Microsc* 201:33-43, 2001
6. De Leonardis D, Garg AK, Pecora GE. Osseointegration of rough acid-etched titanium implants: 5-year follow-up of 100 minimatic implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 14:384-391, 1999
7. De Maeztu MA, Alava J, Gay-Escoda C. Ion implantation: Surface treatment for improving the bone integration of titanium and Ti6Al4V dental implants. *Clin Oral Impl Res* 14:57-62, 2003
8. Donath K. Preparation of histological sections by cutting grinding technique for hard tissue and other material not suitable to be sectioned by routine

- methods : Equipment and methodical performance. p1-16, EXAKT Kulzer Publication, Norderstedt, 1990
9. Lazzara RJ, Testori T, Trisi P, Porter SS, Weinstein RL. A human histological analysis of osseotite and machined surfaces using implants with 2 opposing surfaces. *Int J periodontics Restorative Dent* 19:117-129, 1999
 10. Marinho VC, Celletti R, Bracchetti G, Petrone G, Minkin C, Piattelli A. Sandblasted and acid-etched dental implants: A histologic study in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants* 18:75-81, 2003
 11. Piattelli M, Scarano A, Paolantonio M, Iezzi G, Petrone G, Piattelli A. Bone response to machined and resorbable blast material titanium implants: An experimental study in rabbits. *J Oral Impl* 28:2-8, 2002
 12. Sennerby L, Thomsen P, Ericsson L. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 7:62-71, 1992
 13. Trisi P, Lazzara R, Rao W, Rebaudi A. Bone-implant contact and bone quality: Evaluation of expected and actual bone contact on machined and osseotite implant surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent* 22:535-545, 2002
 14. Trisi P, Lazzara R, Rebaudi A, Rao W, Testori T, Porter SS. Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol* 74:945-956, 2003
 15. Wennerberg A, Albrektsson T, Lausmaa J. Torque and histomorphometric evaluation of c.p. titanium screws blasted with 25-and 75-micron-sized particles of Al₂O₃. *J Biomed Mater Res* 30:251-260, 1996