임플랜트 지대주 재료에 대한 치은 섬유아세포의 반응

전남대학교 치의학 전문대학원 보철학교실

임현필 · 김선헌 · 박상원 · 양홍서 · 방몽숙 · 박하옥

Ⅰ. 서 론

골유착이 임플랜트의 안정을 위한 선결조건인 반면, 임플랜트가 장기간 유지되는 것은 티타늄 표면에 상피와 결합조직이 부착하여, 곧 연조직으로 완전히 밀폐됨으로써 하부 골조직을 구강환경으로부터 보호하는데 달려있다.[1]

치아 주위의 유리변연치은과 임플랜트 주위 점막은 임상적, 조직학적으로 그 양상에 많은 공통점을 보인다.[2-4] 즉, 상피조직과 결체조직 성분 모두에서 치은과 임플랜트 주위 점막조직 간에는 유사성이 존재한다.[5] 그러나 임플랜트 표면에는 치근 백악질층이 없다는 점에서 임플랜트와 치아 사이에 결체조직 섬유의 기시와 부착에 관한 기본적인 차이가 있다.

Berglundh와 Lindhe[6]는 beagle을 이용한 점막-임플랜트 부착의 크기를 연구한 결과 임플랜트 주위 점막은 일정한 최소 넓이가 요구되며, 골흡수는 적절한 연조직을 형성하기 위하여 일어날 수 있다고 보고한 바 있다. 또한 그들은 일단 임플랜트가 구강환경에 노출되어 기능을 하게 되면, 일정한 최소 넓이의 점막 부착이 골유착을 보호하기 위해 필요하다고 제시하였다.

임플랜트 심미성의 개선과 기공 과정을 수월하게 하기 위해 티타늄 이외의 재료들, 즉 금합금, 세라믹 등의 재료가 지대주 재료로 널리 쓰이고 있다. UCLA type 지대주는 임플랜트 매식체의 매식 방향이나 위치에 따라서 술자가 보철재료를 사용해서 주조, 가공할 수 있는 형태로, 심미적인 보철수복 및 교합 고경이 낮을 때 사용할 수 있어서 최근 들어 많이 이용되고 있다.[7] GoldAdapt abutment® (Nobel Biocare, Sweden), UCLA abutment® (3i, USA), AuroBase®(Friadent, Germany), Direct Abutment® (Steri-Oss, USA) 등 거의 모든 종류의 임플랜트에서 UCLA type 지대주를 채택하고 있다. UCLA type 지대주는 임플랜트 매식체 상부구조와의 적합성을 위하여 하부 1-2mm 가량은 금합금(Au 60%, Pt 19%, Pd 20%, Ir 1%)[8]이고 그 위로는 polyoxymethylene[8] 등의 plastic sleeve인 종류와 모두 plastic sleeve로 이루어진 종류가 있어 술자가 선택 가능하며 주조금속은 대부분의 경우 40% 이상의 금함량을 가지고 있는 금합금을 이용하는 것이 보편적이다.

전치부를 포함한 임플랜트 치료에 있어서 심미성의 개선은 큰 도전이 되고 있어서 세라믹 지대주의 수요가 날로 증가하여 Straight esthetic ceramic abutment®(Nobel Biocare, Sweden), Procera Abutment®(Nobel Biocare, Sweden),[9] ZiReal Post®(3i, USA), CeraBase®(Friadent, Germany) 등 그에 따른 공급 역시 크게 증가하고 있는 실정이다.

Abrahamsson 등[10]은 beagle을 이용한 실험에서 티타늄이나 aluminium-based sintered ceramic(Al_2O_3)으로 만들어진 지대주가 적절한 상태의 점막 치유와 연조직 밀폐를 만든 반면에, 지대주 연결 후에 금합금이나 치과용 포셀린으로 만든 지대주는 골흡수와 연조직 퇴축으로 특징지어지는 부적절한 조직 치유

를 초래한다고 하였다. 이 결과는 Thomson[11]등이 토끼에 금, 지르코늄, 티타늄 임플랜트를 식립하여 관찰한 결과 골과 임플랜트 표면과의 접촉양과 형성되는 골의 양이 지르코늄과 티타늄 임플랜트에서 보다 금 임플랜트에서 적었으며, 금 임플랜트의 결합조직 부위에서 더 많은 대식세포들이 발견되었다고 한 결과와 같은 맥락으로 보여진다.

생체적합성 실험 방법에는 세포 수나 세포의 성장을 측정하는 법, 세포막 투과도의 변화를 측정하는 법, 세포내 대사를 측정하는 법, 효소 활성도를 측정하는 법 등의 여러 가지 방법이 있다. 세포 수나 세포의 성장을 측정하는 방법은 경제적이고 쉽게 할 수 있으나 연구자의 주관이 개입될 소지가 많고, 세포막 투과도나 세포 내의 대사를 측정하는 방법은 방사선 동위 원소를 사용해야 하는 어려움이 있다.

효소의 활성도를 측정하여 상대적인 세포수를 측정하는 방법으로 MTS(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium)를 이용할 수 있다. 형성된 formazan의 양을 490nm 흡광도로 측정하는데, 다른 측정법보다 각 well 내의 전체 세포의 활성을 정확하게 측정해낼 수 있으며, 세포 밀도를 객관적으로 평가할 수 있고, 짧은 시간 내에 세포 독성을 측정해낼 수 있는 장점이 있다.

지대주 재료의 생체적합성과 bio-adhesive property(생체부착성)[12]는 적절한 연조직의 형성을 가능하게 하고 궁극적으로는 골유착 유지에 중요한 역할을 한다. 그러나 현재까지 티타늄이 아닌 상기한 다른 지대주 재료의 연조직 치유와 점막 부착에서의 특성 등에 관한 세포수준의 연구가 드물어서 치주조직 재생에 중요한 치은 섬유아세포의 부착과 증식에 관한 연구가 필요하였다. 본 연구에서는 일반적으로 임플랜트에 가장 많이 쓰이는 재료이면서 생체적합성이 뛰어난 티타늄과, 최근 그 수요가 증가하는 세라믹 지대주, UCLA type 지대주의 주조 금속으로 주로 사용되는 금합금, 그리고 니켈-크롬 합금과의 비교를 통해 임상적인 중요성을 얻고자 하였다.

본 연구는 수종의 지대주 재료에 대한 치은 섬유아세포의 부착, 증식, 그리고 각각의 세포독성을 비교하고 주사전자현미경 사진을 촬영하여 생체적합성과 생체부착성을 평가하는데 그 목적이 있다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

가. 시편제작

지대주용 세라믹(C군), 치과주조용 금합금(G군), 치과주조용 니켈-크롬 합금(N군), 티타늄(T군)을 이용하여 Fig. 1과 같이 직경 4mm, 두께 1mm의 원반을 제작하였다. 각 군의 사용 재료는 다음과 같다.

* C군 : Ceramic abutment®
  (ZrO_2 94.4%, Y_2O_3 5.25%, Al_2O_3 0.1%, H_2O 0.1%, 코엘메디, 한국)
* G군 : DM-53®
  (Au 53%, Pd 2.4%, Pt 3.6%, Ag 24%, 우리동명주식회사, 한국)
* N군 : Rexillium III®
  (Ni 74%, Cr 12%, Be 1.6-1.8%, Jeneric Pentron, USA)
* T군 : Titanium
  (grade III, 코엘메디, 한국)

표면 거칠기를 표준화하기 위해 시편을 #600, #1500 및 #2000 SiC 연마지 상에서 연마기(Buehler, USA)를 이용하여 연마하고 최종 연마제는 0.1㎛ alumina 분말을 사용하였다. 최종 연마 후 표면 거칠기를 확인하기 위하여 주사전자현미경 사진을 촬영하였다.(Fig. 1)

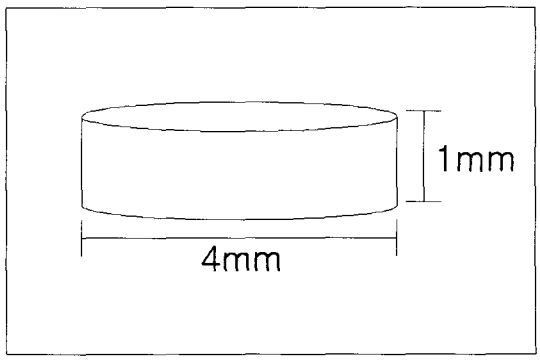

Fig. 1. Schematic diagram of specimen disc.

세포 배양에 앞서 시편을 증류수로 씻고 ethanol에서 20분간 초음파 세척한 후 가압멸균 소독하여 보관하고 실험 전에 EO gas 소독을 시행하였다.

나. 치은 섬유아세포의 배양

치주 수술 후 얻어진 건강한 치은 조직을 항생제가 함유된 Phosphate Buffered Saline(PBS)으로 5회 세척한 후 0.2% dispase(Gibco, USA)가 함유된 Hank's balanced salt solution(Gibco, USA)내에 4°C, 16 - 22시간 두어 상피와 결합조직을 분리하였다. 얻어진 결합조직을 항생제가 함유된 PBS로 5회 세척하고 약 1×1×1mm 크기로 세절한 후 35mm 배양접시에 5-6개 조각을 배지 첨가 없이 30분 동안 이산화탄소 배양기에 두어 조직이 배양접시에 부착되면 항생제와 10% Fetal Bovine Serum (FBS)가 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM) 배지를 첨가하였다. 다음날 배지를 교환하고 그 후로는 3일 마다 교환하였다.

조직으로부터 성장된 세포가 밀생에 도달하면 PBS로 세척한 후 0.05% trypsin/0.53mM EDTA (Gibco, USA)를 첨가하여 37℃, 5% 이산화탄소 배양기 내에 5분간 두어, 세포가 배양접시로부터 분리되면 10% FBS가 함유된 DMEM 배지 1㎖를 첨가한 후 1000rpm에서 10분간 원심분리하고 세포만을 모아 계대배양하여 4-7세대의 치은 섬유아세포를 실험에 사용하였다.

2. 실험방법

가. Cell proliferation assay

배양액을 100㎕/well씩 채운 96-well plate에 각 군당 20개의 시편을 놓았다. 시편이 들어있는 12개의 well에는 치은 섬유아세포를 4×10^4 cells/cm^2 세포 밀도로 분주하고 37℃, 5% 이산화탄소 배양기 내에서 1시간, 3시간, 24시간 배양하였다. 시편이 들어있는 8개의 well에는 치은 섬유아세포를 1×10^4 cells/cm^2 세포 밀도로 분주하여 37℃, 5% 이산화탄소 배양기 내에서 3일, 5일간 배양하였다.

1시간, 3시간, 24시간, 3일, 5일 배양 후 각각 치은 섬유아세포 활성도 평가를 위하여 MTS를 이용하였다. 새로운 96-well plate에 각각 100㎕/well로 배양액을 채운 후 1시간, 3시간, 24시간, 3일, 5일 배양한 시편을 새로운 well로 옮겼다. 각 well에 있어서 살아있는 상대적인 수는 Cell Titer 96 AQucous One Solution Cell Proliferation Assay® (Promega, USA)를 이용하여 처리한 후 결정하였다. 즉, Cell Titer 96 AQucous One Solution® 20㎕를 각 well에 첨가하였고, background substraction을 위해 시편을 넣지 않은 채 오직 배양액만을 넣은 4개의 well에도 첨가하였다. 이어 세포를 37℃, 5% 이산화탄소 배양기 내에서 4시간 배양한 후 ELx 800UV/Automated Microplate Reader® (ETL TESTING Labroatories INC, USA)를 이용하여 각 well에 있어서 490nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포독성을 비교하기 위해 시편 바닥에 있는 치은 섬유아세포의 활성도를 측정하였다. 시편을 옮긴 후 처음 well의 배양액을 제거하고 각각의 well에 새로운 배양액을 200㎕/well씩 채운 다음, Cell Titer 96 AQucous One Solution® 40㎕를 각 well에 첨가하였다. 그 후 세포를 37℃, 5% 이산화탄소 배양기 내에서 4시간 배양하고 ELx 800UV/Automated Microplate Reader®(ETL TESTING Labroatories INC, Cortland, NY)를 이용하여 490nm에서 각 well의 흡광도를 측정하였다.

나. 주사전자현미경 사진 촬영

주사전자현미경 관찰을 위한 시편들을 4% paraformaldehyde에서 2시간 동안 전고정하고 0.1M PBS에서 10분간 2회 헹군 후 1% osmium tetroxide에서 2시간 동안 후고정하였다. 시편들을 0.1M PBS로 씻은 후 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ethanol에서 15분, 100% ethanol에서 10분간 3회에 걸쳐 탈수를 시행하였다. 시편들은 isoamyl acetate와 100% alcohol을 1:1로 섞은 용액에 30분간 넣은 후 isoamyl acetate와 100% alcohol을 3:1로 섞은 용액에 3시간 동안 넣고 이후 isoamyl acetate에 보관하였다. 이어 Critical point dryer® (HCP-2, Hitachi, Japan)를 이용하여 건조하고 ion sputter®(E-1030, Hitachi, Japan)를 이용하여 1분간 10nm의 gold를 coating한 후 JSM-5400®(Jeol, Tokyo, Japan)을 이용하여 세포 부착 및 형태 변화를 관찰하고 주사전자현미경사진을 촬영하였다.

다. 통계분석

One-way ANOVA를 이용하여 각 시간별로 시편 종류에 따른 치은 섬유아세포의 활성도와 well 바닥 세포 활성도의 평균치와 표준편차를 산정하였다. 각 시편종류에 따른 유의성의 평가를 위해 Scheffe's test를 시행하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 시편 표면 치은 섬유아세포의 부착과 증식

Fig. 2는 시간 별로 각 시편 표면 치은 섬유아세포의 부착과 증식을 나타낸다. 1시간과 3시간 후의 시편에 부착된 치은 섬유아세포의 490nm 흡광도는 그 차이가 크지 않았으나 24시간 후에는 N군과 G군이 T군에 비해 유의하게 작았고, 3일, 5일 후로 갈수록 G군과 N군의 흡광도는 T군과의 차이가 커져 금합금과 니켈-크롬 합금의 생체부착성이 티타늄보다 낮음을 알 수 있었다($p<0.05$). C군은 흡광도가 24시간, 3일 후 T군보다 약간 작지만 5일 후 T군과 큰 차이가 없어 세라믹이 티타늄과 마찬가지로 높은 생체부착성을 가지고 있음을 보여 주었다.($p<0.05$)

2. Well 바닥 세포 활성도

Fig. 3은 각 시간별로 시편을 넣어 두었던 well 바닥 치은 섬유아세포의 490nm 흡광도를 나타낸다. 24시간까지는 well 바닥 치은 섬유아세포의 흡광도의 차이가 크지 않았으나 3일 후에는 G군과 N군이 T군보다 유의성 있게 낮았다.($p<0.05$) 5일 후에는 N군이 T군과 비슷할 만큼 증가하였고 오직 G군만이 T군보다 유의성 있게 낮아 니켈-크롬합금의 세포독성이 크지 않고 금합금의 세포독성이 가장 큼을 알 수 있었다. C군은 well 바닥 치은 섬유아세포의 흡광도가 T군과 비슷하게 높아 세라믹이 티타늄과 마찬가지로 높은 생체적합성을 가짐을 보였다.($p<0.05$)

3. 주사전자현미경 소견

1시간 후의 시편은 500배와 1000배로 3시간, 24시간, 3일, 5일 후의 시편은 200배와 500배로 세포 부착 및 형태 변화를 관찰하고 주사전자현미경사진을 촬영하였다.

1시간 후 모든 종류의 시편에서 치은 섬유아세포는 세포가 둥글고 핵을 포함한 세포체로부터 방사상으로 퍼져나가는 세포질의 얇은 테두리를 보였고,

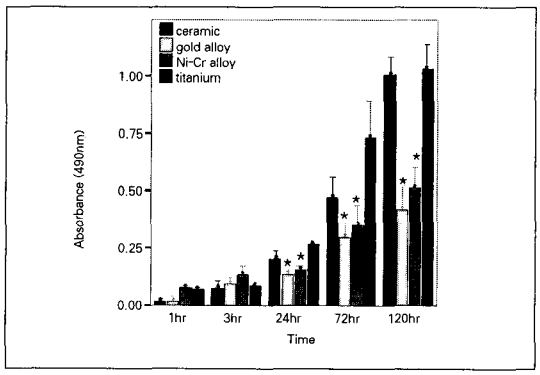

Fig. 2. Absorbance(490nm) of gingival fibroblasts attached and proliferated on specimen disc. * : Statistically different compared with titanium ($p<0.05$).

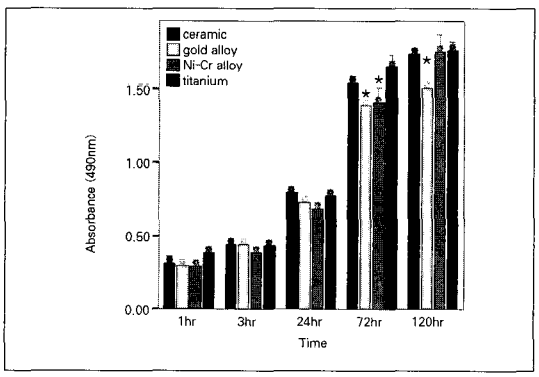

Fig. 3. Absorbance(490nm) of gingival fibroblasts attached and proliferated on bottom of well. * : Statistically different compared with titanium ($p<0.05$).

(Fig. 2) 3시간 후에는 둥근 세포들이 여러 개씩 응집되어 부착되어 있었다.(Fig. 3) 24시간 후 C군과 T군에서는 세포들이 방추형으로 신장되고 편평하게 표면에 긴밀하게 붙어있는 양상을 보였으나, G군과 N군에서는 세포가 위축되어 있었다.(Fig. 4) 3일 후 역시 C군과 T군의 세포들은 표면에 긴밀하게 부착되어 증식하였으나 G군과 N군의 세포는 위축되어 있었으며 세포 수가 상대적으로 적었다.(Fig. 5) 5일 후에는 C군과 T군의 세포들은 편평하게 신장되어 세포간 접촉을 하였고, N군도 방추형으로 신장되고 편평하게 표면에 긴밀하게 붙어 있어 다소 증식의 양상을 보였으나, G군의 세포들은 상대적으로 위축되어 있었으며 그 수가 가장 적었다.(Fig. 6)

Ⅳ. 총괄 및 고찰

자연치아에서 치아와 치은의 경계는 치은열구, 상피부착, 결합조직부착의 3성분으로 구성되어 있다. 치과 임플랜트에서도 또한 상피부착부와 결합조직부착부가 존재하며, 부착부는 임플랜트-조직 계면으로의 세균침범과 음식잔사 삽입을 막는 차단벽으로 작용하는 biologic seal을 구성한다. 임플랜트와 자연치아의 상피부착부는 hemidesmosome과 basal lamina로 구성되며, 결합조직부착부에서는 교원섬유가 임플랜트 표면에 평행으로, 치아표면에서는 수직으로 주행한다.[13]

Abrahamsson 등[10]은 beagle에 Branemark 임플랜트를 식립하여 대조군으로 티타늄 지대주를 실험군으로 aluminium-based sintered ceramic(Al_2O_3), gold abutment, short titanium abutment(높이 1 mm)를 연결하고 6개월 동안 치태조절을 시행한 결과 지대주의 종류가 연조직 부착의 위치와 질에 큰 영향을 미친다는 사실을 발표하였다. 즉 티타늄과 세라믹 지대주는 약 2mm 정도의 접합상피와 1-1.5mm의 결합조직으로 이루어진 정상적인 연조직 부착 상태를 보였으나 gold abutment와 short titanium abutment는 연조직 퇴축과 함께 변연골의 흡수를 보였으며 연조직 부착이 매식체 수준에서 이루어지는 경우가 많았다.

이상에서 알 수 있듯이 지대주 재료의 생체적합성과 생체부착성[12]은 적절한 연조직의 형성을 가능하게 하고 궁극적으로는 골유착 유지에 중요한 역할을 한다. 하지만 최근에 그 사용이 증가하는 금합금과 세라믹 지대주 재료에 대한 세포수준의 연구가 드물어서 치주조직 재생에 중요한 치은 섬유아세포의 부착과 증식에 관한 연구가 필요하였다. 본 연구에서는 일반적으로 임플랜트에 가장 많이 쓰이는 재료이면서 생체적합성이 뛰어난 티타늄과, 최근 그 수요가 증가하는 세라믹 지대주, UCLA type 지대주의 주조 금속으로 주로 사용되는 금합금, 그리고 니켈-크롬 합금과의 비교를 통해 임상적인 중요성을 얻고자 하였다.

본 연구에서 490nm 흡광도 비교 결과 1시간, 3시간 후 시편에 대한 부착은 그 차이가 크지 않고 유의성이 없었고, 주사전자현미경 소견상에서도 시편에 따른 다른 점을 찾기 힘들었다. 24시간 후에 니켈-크롬합금과 금합금의 세포 증식이 티타늄보다 유의하게 낮았고 주사전자현미경 소견에서도 티타늄과 세라믹의 치은 섬유아세포들이 방추형으로 신장되고 편평하게 표면에 긴밀히 붙어 있는데 반해, 니켈-크롬합금과 금합금에서는 세포가 위축되어 있는 양상을 관찰할 수 있었다. 3일, 5일 후에도 니켈-크롬 합금과 금합금에서의 세포 증식이 티타늄보다 현저히 낮고 주사전자현미경 소견에서도 치은 섬유아세포의 위축이 두드러졌다. 반면에 세라믹은 티타늄과 비슷할 정도로 높은 세포 증식을 보이며 주사전자현미경 소견에서도 세포들이 신장되어 세포간 접촉을 하는 모습을 볼 수 있었다.

세라믹에서 치은 섬유아세포의 높은 부착과 증식은 single crystal sapphire 임플랜트를 이용한 동물실험과 임상적 시도에서 이미 보고된 것과 일치한다.[14~16] Mckinney 등[1]은 Al_2O_3에 기초한 임플랜트의 지대주 부위에 형성된 접합상피는 치아의 dento-gingival epithelium과 많은 공통점을 가진다고 보고하였고, Arvidsson 등[17]은 광학 및 전자현미경적 실험에서 이 재료가 불활성이며 생체적합성이 있고 세포 독성이 없을 뿐만 아니라 최소의 이물 반응을 보여 세포의 증식을 허용한다고 하였다. Arvidsson 등[14]은 Branemark 임플랜트 주위 점막과 single sapphire Al_2O_3 임플랜트에서 형성되는 주위 점막을 비교하여 두 임플랜트 주위 점막은 상피와 다양한 결합조직 구성요소가 비슷하다고 보고하였다.

24시간 이후로 금합금의 세포 증식은 티타늄의 그것보다 현저히 낮고 주사전자현미경 소견상 치은섬유아세포의 위축양상이 가장 두드러지고 그 수가 가장 적었다. Thomson 등[11]은 토끼를 이용한 실험에서 금합금이 결합조직과 적절히 반응하지 못한다고 말한 바 있다. 그들은 금합금, 지르코늄, 티타늄으로 이루어진 임플랜트와 피질골 사이의 표면을 연구하고 매식체 나사선 사이로 형성된 골의 양을 검사하여 임플랜트에 부착된 골양이 지르코늄과 티타늄으로 이루어진 임플랜트에 비해 금으로 만들어진 임플랜트에서 더 적고, 나아가 다핵세포와 대식세포를 포함하는 결합조직이 금으로 만들어진 임플랜트에서 더 빈번히 관찰되었다고 하였다. Thomson[11] 등은 재료들의 생체부착성의 차이 때문에 다양한 임플랜트 표면과의 조직 반응에서의 차이가 보인다고 하였고, 세라믹과 티타늄은 생체부착성이 높고 금속은 상대적으로 낮다고 알려져 있다. 더욱이 일반적으로 세라믹과 티타늄은 금합금보다 부식 저항성이 더 크다고 받아들여지고 있다.[12] 티타늄과 세라믹의 표면층이 화학적으로 더 안정하여 표면에 접촉하는 세포의 성장을 허용하는 반면, 금합금은 공기 중에서는 산화에 대한 저항성이 강하지만 해수나 체액에서는 부식에 대한 저항성이 티타늄의 1/100 밖에 되지 않는다.[18] 따라서 특히 심미성이 요구되는 부위에 금합금으로 제작된 지대주를 사용하는 경우에는 세심한 주의가 요구된다고 할 수 있다.[19]

1920년대 말 주조용 비귀금속 합금이 치과에 도입된 이래 그 사용 빈도와 영역이 넓어지고 있으나 임플랜트 수복에서는 그 이용이 제한적이었다. Craig와 Hanks[20,21]는 세포 배양 실험을 통하여 니켈에 기초하는 합금이 잘 연마된 상태에서는 생체적합성을 갖는다고 하였다. Bumgardner 등[22,23]은 trypan blue와 3H-thymidine uptake, 현미경적 구조, 세포 에너지 대사를 이용하여 사람의 치은 섬유아세포에 대한 니켈-크롬 합금의 세포독성을 연구하여 니켈-크롬 합금과 그 부식 산물이 배양된 세포의 생활력, 형태 등에 영향을 미치지 않으며 증식에만 영향을 미칠 것이라고 하였다. 본 실험에서도 니켈-크롬 합금의 3일과 5일 째의 증식이 니켈-크롬 합금이 세라믹과 티타늄에 미치지 못하였으나 well 바닥세포의 증식에서는 큰 영향이 없었다. 최[24]등은 구강점막 상피세포에 대한 치과주조용 비귀금속 합금의 세포독성에 관한 연구에서 96시간까지 세포독성이 거의 없다고 하여 니켈-크롬 합금이 섬유아세포 뿐만 아니라 구강점막 상피세포에도 생체 적합성이 있음을 보였다.

Craig 등[20]은 세포 배양 실험을 통한 치과용 주조합금의 세포 독성에 관한 연구에서 부식에 대한 저항성을 감소시킬 수 있는 다상(multiphase) 조성 합금이 된 결과로 금합금이 높은 세포 독성을 보일 수 있다고 보고하고 우수한 생체적합성을 얻기 위해서는 다상 조성 합금의 사용을 피할 것을 강조하였다. 본 연구에서 세포독성을 비교하기 위한 well 바닥 치은 섬유아세포의 증식은 24시간과 3일 후에 금합금과 니켈-크롬 합금이 티타늄보다 낮았으나, 5일 후에는 오직 금합금만이 유의성 있게 낮았다. 따라서 니켈-크롬 합금은 세포독성이 크지 않으며 금합금이 세포독성이 가장 큰 것으로 해석된다. 따라서 금합금은 치은 섬유아세포의 증식을 제한하고 높은 세포 독성을 보일 수 있으므로 연조직의 치유가 중요한 전치부 등에서 사용할 때는 주의가 필요하리라 사료된다.

이상의 연구에서 세라믹은 치은 섬유아세포의 부착과 증식이 티타늄과 유사하여 생체부착성과 생체적합성이 높았으며, 니켈-크롬 합금은 치은 섬유아세포의 증식을 제한할 수는 있으나 세포 독성이 크지 않았다. 금합금은 치은 섬유아세포의 증식을 크게 제한하고, 세포 독성 또한 가장 컸다.

본 연구에서는 임플랜트 지대주 재료에 대한 치은 섬유아세포의 부착과 증식을 평가하였는데, 향후 구강 상피세포의 부착과 증식에 관한 연구 또한 연조직 치유에서의 특성을 파악하는 데 필요하며 각 재료의 표면 성상에 따른 세포의 부착과 증식에 관한 부가적인 연구 역시 필요하리라고 사료된다.

Ⅴ. 결 론

본 연구에서는 최근 그 이용이 증가하고 있는 세라믹 지대주, 치과주조용 금합금과 치과주조용 니켈-크롬 합금, 그리고 대조군으로 임플랜트에 가장 많이 쓰이는 재료인 티타늄에 대한 치은 섬유아세포의 부착, 증식, 그리고 각각의 세포독성을 비교하고 주사전자현미경 관찰을 통하여 생체적합성과 생체부

착성을 평가하고 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 세라믹에서 티타늄과 유사하게 치은 섬유아세포의 부착과 증식이 잘 이루어져 있었고, well 바닥 세포의 증식이 티타늄과 유사하였다.
2. 금합금에서 티타늄보다 치은 섬유아세포의 증식이 크게 억제되었고,($p<0.05$) well 바닥 세포의 증식이 티타늄보다 낮았다.($p<0.05$)
3. 니켈-크롬 합금에서 티타늄보다 치은 섬유아세포의 증식은 억제되었으나,($p<0.05$) 5일째의 well 바닥 세포의 증식이 티타늄과 유사하였다.
4. 주사전자현미경 관찰에서 세라믹에서 티타늄과 유사하게 치은 섬유아세포의 활발한 부착과 증식 양상이 관찰되었으나, 24시간과 3일 후 금합금과 니켈-크롬 합금에서는 치은 섬유아세포의 위축 양상이 뚜렷하였다. 5일째 니켈-크롬 합금에서 치은 섬유아세포의 증식 양상이 다소 관찰되었으나 금합금에서는 여전히 치은 섬유아세포가 위축되어 있었다.

이상의 결과는 세라믹 지대주가 티타늄과 유사하게 치은 섬유아세포에 대한 생물학적 적합성이 뛰어나 적절한 연조직의 치유와 점막 부착을 이룰 수 있는 재료임을 시사하였다. 또한 금합금은 치은 섬유아세포의 증식을 제한하고 높은 세포 독성을 보일 수 있으므로 연조직 치유가 중요한 전치부 등에서 사용할 때는 주의가 필요하리라 사료된다.

참고문헌

1. McKinney RV, Steflik DE, Koth DL. Evidence for junctional epithelial attachment to ceramic dental implants : A transmission electron microscope study. J Periodontol 1985;425-436.
2. Adell R, Lekholm U, Rockler B. Branemark P-I, Lindhe J, Eriksson B. Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures. I. A 3-year longitudinal prospective study. Int J Oral Maxillofac Surg 1986;15:39-52.
3. Lekholm U, Ericsson I, Adell R, Slots J. The condition of the soft tissues at tooth and fixture abutments supporting fixed bridges : A microbiological and histological study. J Clin Periodontol 1986;13:558-562.
4. Akagawa Y, Takata T, Matsumoto.T, Nikai H, Tsuru H. Correlation between clinical and histological evaluations of the peri-implant gingival around single crystal sapphire endosseous implant. J Oral Rehabil 1989;16:581-587.
5. Gould TR. Brunette DM. Westbury L. The attachment mechanism of epithelial cells to titanium in vitro. Journal of Periodontal Research 1981;16:611-6.
6. Berglundh T, Lindhe J. Dimension of the peri-implant mucosa : Biological width revisited. J Clin Periodontol 1996;23:971-973.
7. Lee DH, Kim WH, Seol KS, Lee JH, Lee YS, Choi SK. Osseointegrated Implant. p455, Shinhung international co. 2002.
8. Friadent Catalog. p115, Friadent. 2002.
9. Kucey BK. Fraser DC. The Procera abutment-the fifth generation abutment for dental implants. Journal of Canadian Dental Association. Journal de L' Association Dentaire Canadienne 2000;66:445-9.
10. Abrahamsson I. Berglundh T. Glantz PO. Lindhe J. The mucosal attachment at different abutments. An experimental study in dogs. Journal of Clinical Periodontology 1998;25:721-7.
11. Thomson P, Larsson C, Ericson L E, Sennerby L, Lausmaa J, Kasemo B. Structure of the interface between rabbit cortical bone and implants of gold, zirconium and titanium. Journal of materials science : Materials in Medicine 1997;8:653-66.
12. Myer AE, Baier RE, Glantz P-O, Naiella JR. Biomaterials: Selection, evaluation, and preparation. Dental Implants, Principles

and practice. pp31-42 W.B. Saudners Comp, Philadelphia 1991.
13. Chung HJ. Documentary consideration and prevention of crestal bone loss around Implant. Dental Success 2003;23:48-58.
14. Hashimoto M, Akagawa Y, Nikai H, Tsuru H. Single-crystal sapphire endosseous dental implant loaded with functional stress-clinical and histological evaluation of peri-implant tissues. J Oral Rehabil 1988;15:65-76.
15. Hashimoto M, Akagawa Y, Nikai H, Tsuru H. Ultrastructure of the peri-implant junctional epithelium on single-crystal sapphire endosseous dental implant loaded with functional stress. J Oral Rehabil 1989;16:261-70.
16. Arvidson K, Fartash B, Moberg LE, Grafstrom R, Ericsson I. In vitro and in vivo experimental studies on single crystal sapphire dental implants. Clin Oral Implants Res 1991;2:47-55.
17. Arvidson K, Fartash B, Hilliges M, Kondell PA. Histological characteristics of peri-implant mucosa around Branemark and single-crystal sapphire implants. Clin Oral Implants Res 1996;7:1-10.
18. Steinmann S. Titanium-the material of choice?. Perio 2000 1998;17:7-21.
19. Moon IS. The relationship between implant and surrounding tissue in a periodontal point of view. Dental Implant 2002;2(3):20-26.
20. Craig RG, Hanks CT. Cytotoxicity of experimental casting alloys evaluated by cell culture tests. J Dent Res 1990;69:1539-42.
21. Craig RG, Hanks CT. Reaction of fibroblasts to various dental casting alloys. J Oral Pathol 1988;17:341-7.
22. Bumgardner JD, Lucas LC. Cellular response to metallic ions released from nickel-chromium dental alloys. J Dent Res 1995;74:1521-7.
23. Bumgardner JD, Doeller J, Lucas LC. Effect of nickel-based dental casting alloys on fibroblast metabolism and ultrastructural organization. J Biomed Mater Res 1995;29:611-7.
24. Choi YJ, Yook JI, Chung MK. Cytotoxicty of dental cast base metal alloys on human oral keratinocytes. J Kor Acad Prosthodont 1999;37:717-729.

Reprint request to:

Sang-Won Park, D.D.S., Ph.D.
Dept. of Proshodontics, College of Dentistry, Chonnam National University
Hak-dong 8, Dong-ku, Kwangju, 501-191, Korea
psw320@chonnam.ac.kr

Legend of Photography

Photo 1. Scanning electron micrographs of the prepared disc surfaces. All surfaces are smooth(×1000).

Photo 2. Gingival fibroblasts attached on the disc surfaces after 1 hr of inoculation(a~d ×500, e~h ×1000). Cells are round, with a thin rim of cytoplasm spreading out radially from round cell body which contains the nucleus.

Photo 3. Gingival fibroblasts attached on the disc surfaces after 3 hrs of inoculation(a~d ×200, e~h ×500). Cells on all surfaces are flat and seem to form contacts with adjacent fibroblasts.

Photo 4. Gingival fibroblasts attached on the disc surfaces after 24 hrs of inoculation(a~d ×200, e~h ×500). Gingival fibroblasts cultured on ceramic and titanium surfaces are mainly elongated and flat. On the gold alloy and Ni-Cr alloy surfaces, cells are not elongated, but shrunk.

Photo 5. Gingival fibroblasts attached on the disc surfaces after 3 days of inoculation(a~d ×200, e~h ×500). Gingival fibroblasts cultured on ceramic and titanium surfaces are intimately growing attached on the surface. Cells on gold alloy and Ni-Cr alloy surfaces are not elongated.

Photo 6. Gingival fibroblasts attached on the disc surfaces after 120 hrs of inoculation(a~d ×200, e~h ×500). Gingival fibroblasts cultured on ceramic and titanium surfaces are aligned in rows and formed cell-to-cell contacts. The cells on the Ni-Cr alloy surfaces are elongated and flat. On the gold alloy surfaces, the cells are not elongated.

사진부도 ①

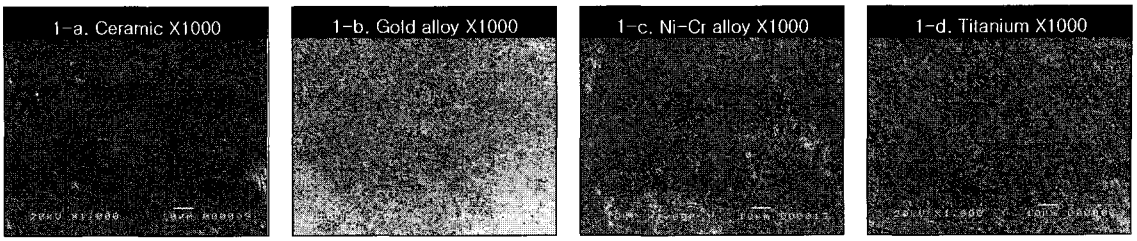

Photo 1

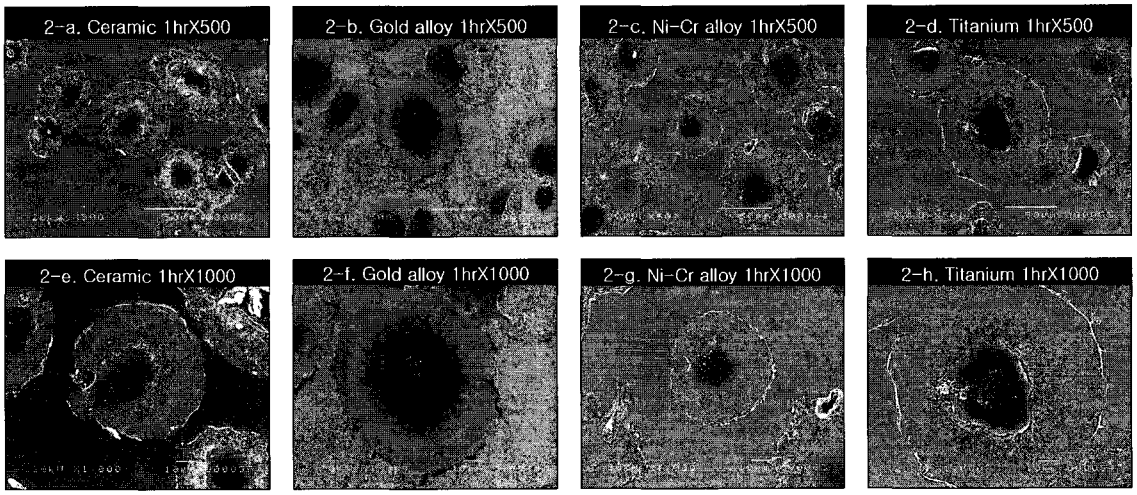

Photo 2

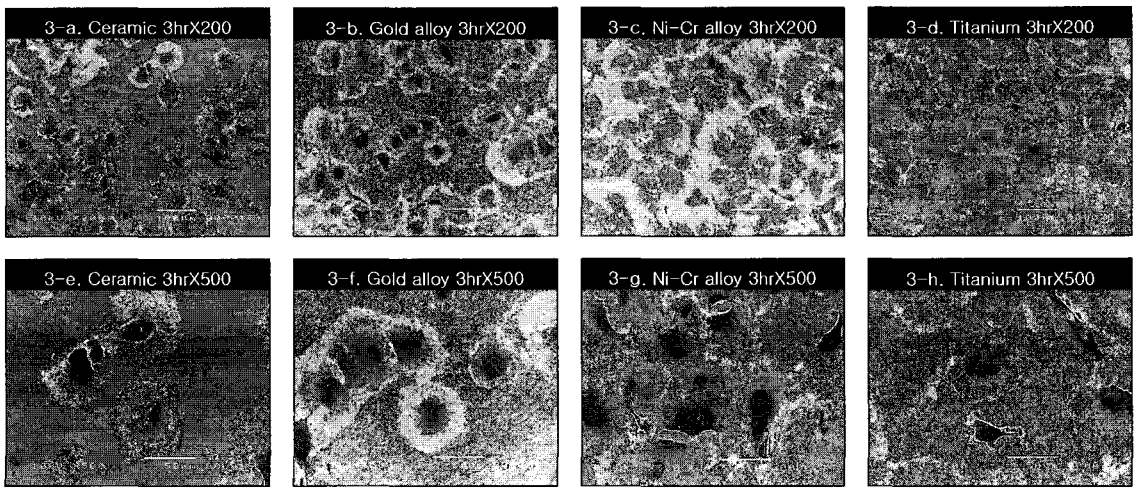

Photo 3

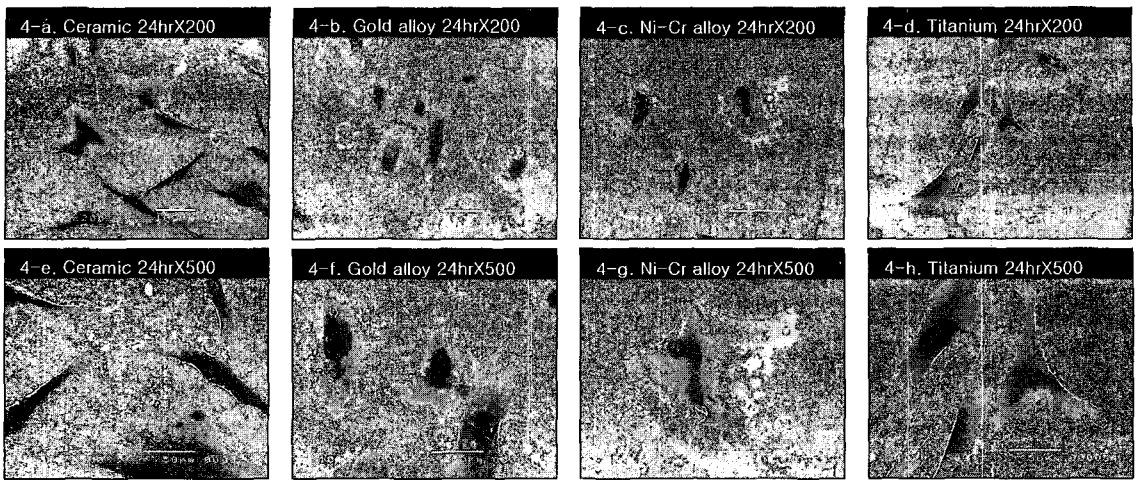

Photo 4

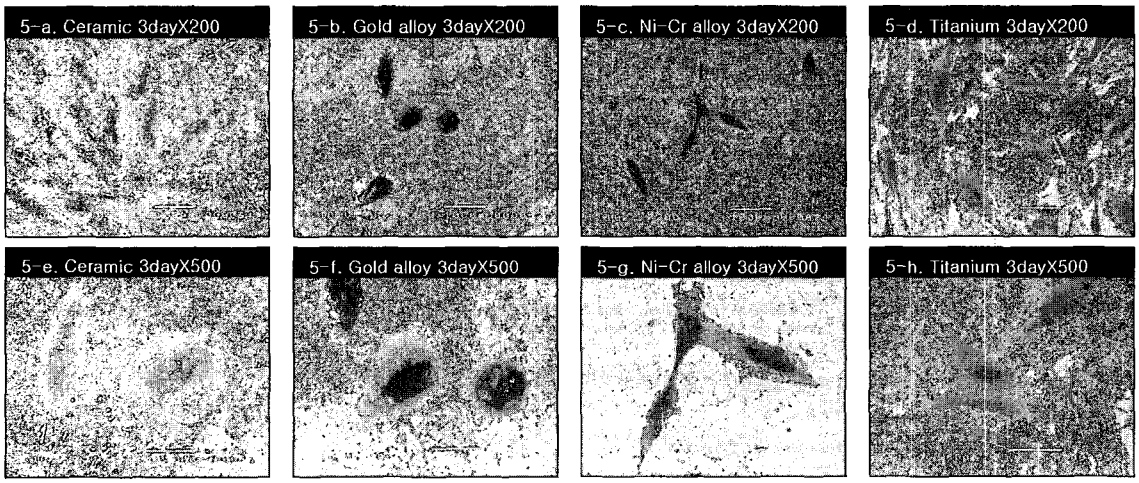

Photo 5

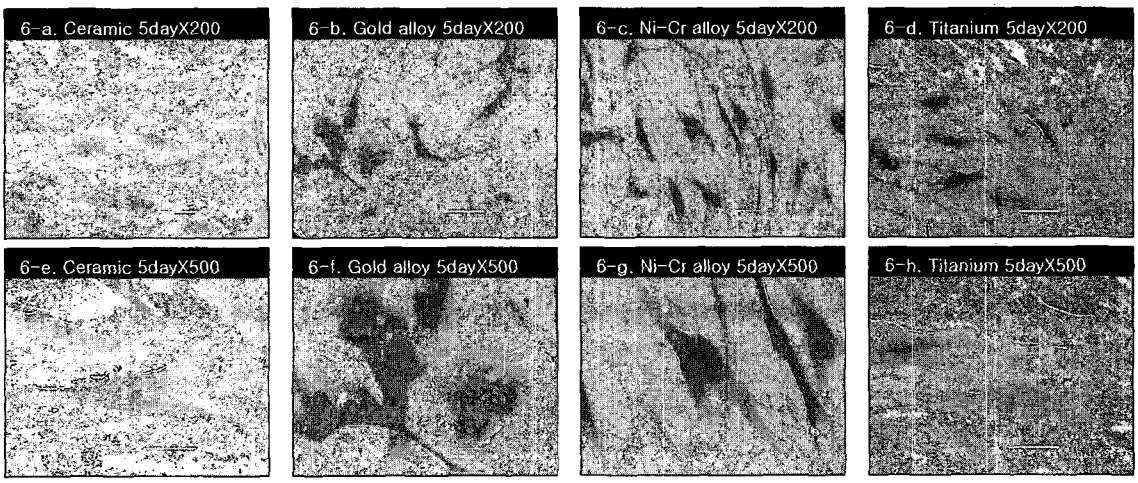

Photo 6

ABSTRACT

ATTACHMENT AND PROLIFERATION OF HUMAN GINGIVAL FIBROBLASTS ON THE IMPLANT ABUTMENT MATERIALS

Hyun-Pil Lim, D.D.S., Sun-Hun Kim, D.D.S., Ph.D., Sang-Won Park., D.D.S., Ph.D., Mong-Sook Vang, D.D.S., Ph.D., Hong-So Yang, D.D.S., Ph.D., Ha-Ok Park, D.D.S., Ph.D.

Department of Prosthodontics, Graduate School, Chonnam National University

Purpose: The biocompatibility and bio-adhesive property of a dental implant abutment are important for proper soft tissue healing and maintenance of osseointegration of implant. However, studies of soft tissue healing and mucosal attachment of various materials of implant abutment other than titanium are still needed. In this study, cell attachment, proliferation, cytotoxicity of human gingival fibroblast for ceramic, gold alloy, Ni-Cr alloy and, commercially available pure titanium as a control were evaluated, using MTS and scanning electron microscopy.

Materials and Methods: Specimen was designed to disc, 4mm diameter and 1mm thickness, made of ceramic, gold alloy, Ni-Cr alloy and commercially available pure titanium. Primary culture of human gingival fibroblasts were grown in Dulbecco' s modified Eagle' s medium with 10% fetal bovine serum and 1% antibiotics. Cells were inoculated in the multiwell plates placed the specimen disc. Cell Titer 96 AQucous One Solution Cell Proliferation Assay were done after 1hour, 3hours, 24hours, 3days, 5days of incubation. The discs were processed for scanning electron micrography to evaluate cell attachment and morphologic change.

Results: The results were obtained as follows.

1. The ceramic showed high cell attachment and proliferation and low cytotoxicity, which is as much bioadhesive and biocompatible as titanium.
2. The gold alloy represented limited proliferation of human gingival fibroblast and the highest cytotoxicity among tested materials ($p<0.05$).
3. The Ni-Cr alloy limited the proliferaion of the human gingival fibroblast compared to titanium($p<0.05$), but cytotoxicity on the bottom of well was not so considerable, compared to titanium.
4. On the scanning electron micrographs, the ceramic showed good attachment and proliferation of human gingival fibroblast, which was similar to titanium. But gold alloy and Ni-Cr alloy showed the shrinkage of gingival fibroblast both after 24 hours and 3 days. On 5th day, small amount of the human gingival fibroblast proliferation was observed on the Ni-Cr alloy, while the shrinkage of gingival fibroblast was still observed on the gold alloy.

Conclusions:

These results suggest that the ceramic abutment is as biocompatible as titanium to make proper mucosal seal. The gold alloy has a high cytotoxicity to limit proliferation of gingival fibroblast, which suggest limited use on the anterior tooth where soft tissue healing is recommeded.

Key words : Implant Abutment, Fibroblast, Cytotoxicity, Gold Alloy