

동물실험용 골융합 임플란트 시스템 개발

배태수[#], 허 현^{*}, 김신기^{*}, 문무성^{*}, 안재용^{**}, 홍성란^{**}

Development of the Osseo-integrated Implant system for Laboratory Animals

Tae Soo Bae[#], Hyun Heo^{*}, Shin Ki Kim^{*}, Mu Seong Mun^{*}, Jae Yong Ahn^{**} and Sung Ran Hong^{**}

ABSTRACT

The novel implant system was developed using osseo-integration technology which enable amputee to overcome skin troubles in use of previous socket system and was evaluated in view of biomechanics, radiology, histology, and pathology. The osseo-integrated implants were designed and manufactured using CT image of canine's tibia and were applied to laboratory animals (canines). The follow-up studies were performed for 24 months with 10 canines. In radiology examination, we found that the relative low strain distribution caused medial and posterior bone resorption and then we verified them by biomechanical testing. In histological approach, the complete osseo-integration was observed through the activity of osteoblast cells around bone-implant interface and the radial outer region of bone due to peristeam reaction. Lastly in pathological aspect, the evidence of superficial infection was detected but that of deep infection was not. Therefore it is thought that infection problem will be overcome by immunity of body and good hygiene.

Key Words : Osseo-integration (골융합), Laboratory animal (실험동물), Gait analysis (보행분석), CT (전산화단층촬영), Bone resorption (골재흡수), Infection (감염)

1. 서론

일반적으로 산업재해 혹은 교통사고로 인하여 하지의 일부분이 절단된 대부분의 환자들은 단단부(amputated region or stump)에 적합한 소켓과 인공 의지(artificial prosthesis)를 착용하고서는 재활보행 훈련을 하게 된다. 그러나 많은 경우 소켓을 착용한 후 보행을 할 경우 소켓과 단단부 경계면에 나타나는 접촉압력(contact pressure)으로 인해 심한 통

증이 발생되고, 지속적인 접촉압력으로 인해 피부 손상까지도 초래한다. 또한 탈착이 불편한 것 뿐만 아니라 단단부의 부피가 변화됨에 따라서 새로운 소켓을 제작해야 하는 번거로움이 늘 존재한다. 따라서 고통과 통증이 없고, 탈착이 용이하며, 단단부 변화를 고려할 필요없는 새로운 개념의 소켓이 요구되어져 왔다.

이러한 기존 소켓 방식의 문제점을 극복하기 위해서 스웨덴 의사 Per-Ingvar Branemark 에 의해

접수일: 2007년 3월 2일; 게재승인일: 2007년 7월 30일
교신저자: 산재의료관리원 재활공학연구소 인체공학연구팀
E-mail: bmebae@iris.korec.re.kr Tel. (032) 500-0771
* 산재의료관리원 재활공학연구소
** 관동대학교 의과대학

골융합(osseo-integration)이라는 새로운 기술이 소개되었다.¹ 골융합 기술은 상지 혹은 하지 절단 후 단단부의 골강 내부에 임플란트(implant)를 외과적 시술을 통해 삽입하고, 삽입된 임플란트와 인공의 지를 직접 연결시킴으로 기존 소켓 방식의 의지 시스템이 갖고 있는 부작용 즉 통증 및 비정상적 체중 전달체제 등의 문제를 근원적으로 해결하는 방법 중의 하나로 알려져 있다.

현재 절단장애자에게 골융합 기술을 사용한 기계-인체의 인터페이스를 제공하는 것에 대한 임상 의사 사이의 논란은 외부에 노출되는 상하지의 인체 조직의 감염에 의한 괴사(necrosis)이다. 이와 함께 생물학, 의학, 생체물리학적 관점에서의 골융합 임플란트와 인체조직 간 변화와 생체역학적인 경·연조직의 재형성에 대한 연구는 부족한 실정이다.² 또한 스웨덴의 Branemark 그룹에 의한 의지 골융합 시스템에 대한 인체 실험은 성공적인 것으로 보고되고 있으나, 인체실험 이전에 수행되었으리라 추정되는 실험동물을 통한 전임상에 대한 보고서는 발표된 바 없으며, 미국 및 기타 임상 선진국에서도 인공치아 관련 연구를 제외하고는 적절한 실험 동물 모델을 찾기 어렵다.^{3,4}

그러므로 본 연구에서는 실험동물에게 적용할 수 있는 임플란트를 개발하고, 방사선적, 조직학적, 그리고 병리학적 측면에서 골융합 임플란트 시스템을 평가함으로써 골융합 기술을 평가할 수 있는 동물 모델을 개발하고자 하였다.

2. 실험 대상 및 방법

2.1 실험 대상

본 연구에서 사용된 실험동물은 1년생 비글견으로 약 10kg 미만의 중형견 총 10 마리를 그 대상으로 하였다. 각 실험동물은 입고와 동시에 건강검진을 통하여 정상상태의 비글견만을 그 대상으로 하였다.

2.2 골 형상 획득

실험동물에게 적용할 임플란트를 설계하기 위하여 비글견의 오른쪽 뒷다리의 경골에 대해 전산화단층촬영(computed tomography, CT)촬영을 실시하였고, 영상처리 프로그램(Vworks 4.0, cybermed inc. Korea)을 이용하여 CT 영상을 3 차원으로 재구성하였다. 재구성된 비글견 경골 골강(tibial cavity)의 장

단축 길이를 측정함으로써 임플란트 설계 변수로 사용하고자 하였다.

2.3 실험동물용 임플란트 개발

실험동물에게 시술하기 위한 임플란트는 경골의 골강 내부 크기에 대한 변수들을 이용하여 설계 하였으며, 논란이 되는 절개 부위의 감염 가능성을 줄이기 위해 절개 부위를 최소화 하면서, 동시에 기능성을 확보할 수 있도록 3 가지 형태의 임플란트를 각각 설계 제작하여 실험동물에게 적용하였다(Fig. 1). 또한 제작에 대한 오차를 고려하여 CT 영상을 통해 구해진 골강 크기를 중심으로 다양한 크기의 임플란트(5.6mm ~7.0mm, 0.2mm 간격)를 제작함으로써 CT 영상으로부터의 골강 크기와 수술시 측정되는 실제 골강 크기의 차이를 대비하도록 하였다.

2.4 임플란트 시술

임플란트 시술 전 실험동물에 대한 건강 검진을 다시 수행 한 후 이상이 발견되지 않음을 확인한 다음 임플란트 시술에 들어갔다. 먼저 실험동물의 오른쪽 뒷다리의 경골을 절개한 후 경골 내부에 대한 실측을 통하여 임플란트의 크기를 결정한 후 삽입하는 임플란트의 정렬을 위해 C-arm 을 이용하여 선정된 임플란트를 절개된 경골 내부로 삽입하였다. 임플란트를 삽입한 후 절개된 연부조직들을 봉합한 다음 6 주간의 회복기를 가진 후 인공 의지와 연결 부위인 어뷰트먼트(abutment) 시술을 시행하였다.

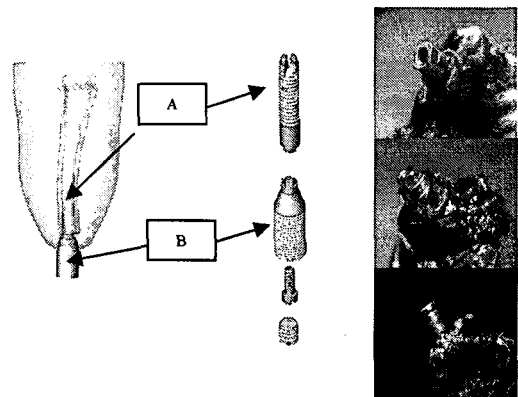


Fig. 1 Osseointegrated-implant(A) and abutment(B) system(left) and three prototype implant (right)

이 때 감염의 가능성을 최소화 하기 위하여 절개 부위를 최소 절개하도록 하였으며, 어뷰트먼트 시술 후 2 주간의 회복기를 가지게 한 다음 보행 훈련을 실시하도록 하였다.

2.5 보행 분석

임플란트-어뷰트먼트 시술 후 재활보행을 위하여 실험동물의 절단 단단부에 적용 가능한 의지를 제작하여 착용한 다음 재활훈련을 실시하였다(Fig. 2). 또한 임플란트 시술 전 후의 보행 상태를 비교 분석하기 위하여 실험동물을 대상으로한 보행분석을 실시하였다. 7 대의 적외선 카메라, 25mm 반사 마커, 데이터 처리장치, 콘트롤 PC 로 구성된 동작 분석 시스템(Vicon 370, Oxford metrics Ltd., U.K.)을 이용하였으며, 실험동물용 보행분석 프로토콜을 개발한 후 적용함으로써 수술 전 후의 각 관절의 기구학적 정보(kinematical data)를 계산해 보았다. 또한 보행시 건축 다리와 임플란트가 삽입된 다리에 대한 하중 분배 정도를 족압측정시스템 (Tekscan 5315, USA)을 이용하여 측정함으로써 확인해 보았다.

2.6 추적 조사

실험동물용 골융합 임플란트를 삽입한 후 2 년 까지 경골과 임플란트간의 상호 반응에 대해 방사선적, 골조직학적, 그리고 병리학적 측면에서 추적 조사를 실시하였다.

2.6.1 방사선적 검사

본 연구에서는 임플란트가 삽입된 부위에 대해 정기적인 방사선 검사(x-ray)를 통해 임플란트 주변의 골조직의 상태를 지속적으로 관찰하였다.

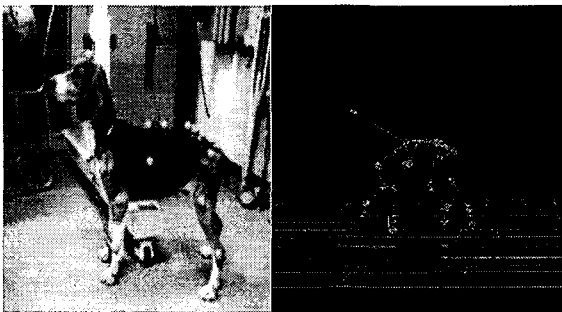


Fig. 2 Gait analysis with a developed marker set (left) and sticks figure (right)

2.6.2 골 조직 검사

일반적으로 12 주 정도가 되면 implant 와 신생 골간의 경계가 명확히 보인다고 해서 보통은 12 주까지의 결과를 비교하는 경우가 다반사이다. 그러나 초기 논문의 경우를 보면 12 주 이후의 골융합 추이를 보려고 40 주까지 하기도 하였는데, 대부분의 기존골 (pre-existing bone)이 신생골(new bone)로 변하는 결과를 나타내었다. 본 연구에서는 임플란트 시술 후 12 주의 결과를 골조직 검사 대상으로 삼았다. 따라서 12주후 실험동물(4 마리)을 희생한 후 임플란트가 삽입 되어진 경골부위를 절개하여 조직 검사하도록 하였다.

골-임플란트 시편을 MMA(methylmethacrylate, Spurr's resin) 용액을 이용하여 중합한 뒤 Diamond Saw 를 이용하여 저속으로 시편을 150~300 μ m 정도의 크기로 횡단면과 종단면을 각각 절단 후 표면을 polishing 처리를 하였다. 절개한 시편을 0.1% formic acid 에 1 분 정도 담궈둔 후 증류수로 깨끗이 수세한 다음 내부에 수분을 없애기 위해 알코올 치환을 수행한다. 그런 다음 비탈회 표본 염색법(Toluidine Blue Staining)을 이용하여 시편을 염색한 다음 광학 현미경을 이용하여 임플란트 주변의 골세포 활동과 혈관 형성 활동을 관찰하였다.⁵

2.6.3 병리학적 검사

임플란트 시스템으로 인한 감염 정도를 파악하기 위하여 병리학적 검사를 수행하였다. 먼저 희생된 실험동물의 경골부위를 채취하여, 고정액(10% neutral formalin)에 24 시간 동안 냉장보관(4 $^{\circ}$ C)한 다음 임플란트가 삽입된 부위를 기준으로 경골의 길이방향으로 30mm 의 피부조직을 절개하여 5mm 간격으로 시편을 나누었다. 각각의 시편들을 paraffin block 으로 만든 다음 횡방향과 종방향으로 두께 2um 의 여러 조직 시편을 제작한 후 H.E 염색한 후 형광현미경을 통하여 정성적 검사를 수행하였다.⁶ 검사를 통하여 경골 길이방향과 각 단면의 원주방향으로의 감염정도를 파악하였다.

2.7 골 주변 변형률 실험

골융합 임플란트를 착용한 상태에서 장기간 재활보행을 할 경우 골 주변의 변형률의 변화가 골융합의 정도에 어떠한 영향을 주는 알아보고자 의지를 착용한 상태를 묘사한 기계실험을 실시하였다.^{7,8}



Fig. 3 Configuration of mechanical testing and specimens with straingages

준비된 경골의 연부조직들을 다 제거한 다음 임플란트가 삽입된 위치를 기준으로 해서 전후방에 스트레인지지를 각각 3 개씩 부착하였다. 또한 경골의 각도를 125° 로 고정한 다음 보행시 최대 하중을 고려하여 외부 어뷰트먼트가 연결된 임플란트에 100N 의 하중을 인가하였으며, 이 때의 각 부위의 변형률을 Datashuttle (A/D converter, IOtech inc., USA)와 DasyLab software (IOtech inc., USA)을 이용하여 측정하였다(Fig. 3).

3. 결과 및 토론

3.1 골융합 임플란트 제작 및 수술 결과

실제 시술에 사용 되어진 임플란트의 직경과 CT 영상을 통해 추정된 영상간에는 약 0.2mm ~0.4mm 정도의 오차가 발생하였는데, 이는 3D 모델링 상에서는 치밀골 만을 표현하였기 때문에 고려되지 않은 해면골의 부피만큼 골강 지름이 더 크게 모델링됨으로 모델링 상에서 추정한 임플란트 크기와 실제 적용한 임플란트 크기에 차이가 발생한 것으로 여겨진다(Fig. 4).

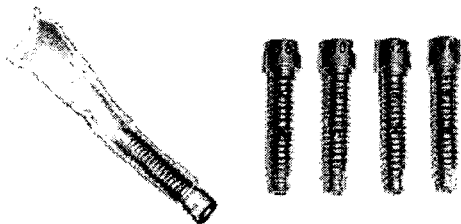


Fig. 4 3-dimensional tibia modeling with osseointegrated implant and manufactured implants

3.2 보행훈련 및 분석 결과

본 연구를 통하여 실험동물용 보행분석 프로토콜을 개발하였으며, 이를 이용하여 수술 전 실험동물 각 관절의 기구학적 정보를 구할 수 있었다.

수술 전 관절의 각도를 이용하여 수술 후의 착용하게 될 의지의 초기 설정 각도를 정할 수 있었으며, 설정된 의지를 착용하고 보행 분석을 함으로 수술한 뒷다리와 건측 뒷다리의 대칭적인 동작 및 하중분포를 확인할 수 있었다.

3.3 방사선적 검사 결과

수술 직후로부터 시작해서 정기적으로 입상의 의 도움을 받아 방사선적 검사를 실시하였다. 초기 영상을 통해서 보면 관상면과 시상면 모두 임플란트가 잘 자리잡고 있는 영상을 볼 수 있지만, 20 주가 지난 후의 결과들을 살펴보면 관상면에서 경골 원위부 내측이, 그리고 시상면에서는 경골 원위부 후방 부위의 치밀골이 많이 감소된 것을 볼 수 있다(Fig. 5).

이는 실험동물이 의지를 착용하고 보행훈련을 할 때 관절에 걸리는 모멘트로 인하여 관상면의 경골 원위부 내측과 시상면의 후방 치밀골에 낮은 변형률이 작용하여 골흡수(bone resorption)이 일어난 것으로 간주되며, 이는 실제 기계실험을 통해서도 확인할 수 있었다(Fig. 6). 따라서 초기 임플란트의 식립의 정확성과 의지 관절 각도에 따른 모멘트를 고려한 재활보행 훈련이 치료 예후에 큰 영향을 미침을 알 수 있었다.

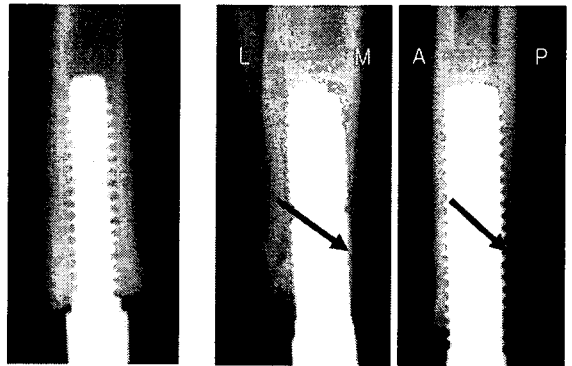


Fig. 5 X-ray images at initial state (left) and 20 weeks state (right)

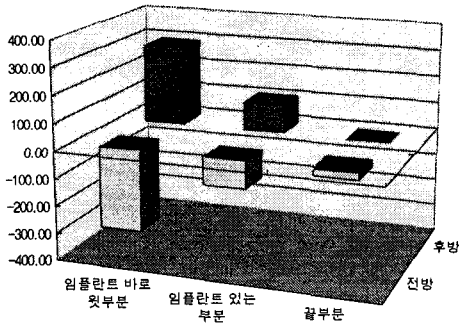


Fig. 6 strain(ϵ) around osseo-integrated implant with respect to sagittal plane

3.4 골 조직 검사 결과

임플란트와 골조직과의 골융합 정도를 조직검사를 통해서 확인해 보았다.

그 결과 임플란트와 기존 골조직간의 경계면 주변에 조골세포(osteoblast cell)의 활동이 활발한 것으로 나타났으며, 기존 골과의 경계면도 확인되었다. 또한 기존 골에서 원주방향 밖으로도 신생골이 생성된 것이 확인되었는데, 이는 골막 반응(perioseum reaction)으로 생성된 것으로 사료된다. 또한 임플란트 내부 공간 속으로도 혈관들이 침투하여서 임플란트와 골조직간의 골융합이 활발하게 진행됨을 보여주었다(Fig. 7).

3.5 병리학적 검사 결과

각각 4 개월, 8 개월, 2 년 된 실험동물 총 4 마리에 대해 병리학적 검사를 수행하였다. 면역체계에 의해 극복 가능함을 확인할 수 있었다.

4, 8 개월 된 실험동물의 경우 임플란트가 들어간 입구의 피부에서는 만성활동성 염증으로 피부괴사 동반하고 있으나(Fig. 8a), 뼈 근처의 대부분의 조직은 염증이 없는 수복(repair)된 조직임을 확인하였다(Fig. 8b).

또한 2 년 된 실험동물에서는 임플란트가 들어간 입구의 피부에서는 만성활동성 염증을 시사하는 임파구(lymphocytes), 형질세포(plasma cells), 그리고 백혈구(neutrophils)의 침윤 보이며, 만성활동성 염증으로 피부괴사 동반하고 있었지만(Fig. 8c), 임플란트가 들어간 입구의 피부를 제외한 부위의 피부의 표피는 염증이 없는 정상상태인 것으로 나타났다(Fig. 8d).

즉 4, 8 개월 및 2 년 된 실험동물의 표면 조직

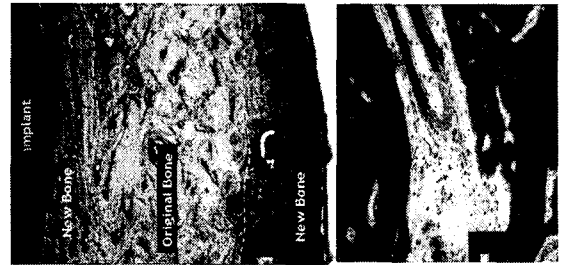


Fig. 7 Histological results for osseo-integrated implant

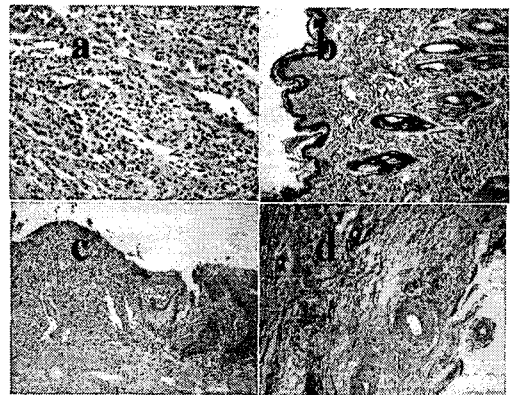


Fig. 8 Pathological result around osseointegrated implant

세포에서는 만성 감염 세포가 발견되었지만, 2-3cm 아래의 피부조직에서 치유된 증거(repaired evidence)와 외부 감염 세포에 대한 반응의 결과(foreign body reaction)가 나타남으로 골융합 임플란트 수술에 따른 감염문제는 체내에서의 면역체계에 의해 극복 가능함을 알 수 있었다.

4. 결론

기존의 소켓 방식 의지의 단점을 보완하기 위해 새롭게 제시된 골융합 기술을 이용하여 실험동물용 골융합 임플란트를 개발하였고, 이에 대한 임상평가를 실시하였다.

실험동물의 경골에 대한 CT 영상을 이용하여 임플란트의 설계변수를 구할 수 있었으며, 이를 이용하여 제작한 임플란트를 실험동물모델에 적용하였다. 또한 적용된 임플란트 시스템은 방사선적, 골 조직학적, 그리고 병리학적 관점에서 추적조사를 실시함으로써 시스템을 평가하였다. 방사선적 결

과를 통해 시상면에서는 후방 골조직이, 관상면에서는 내측 골조직이 낮은 변형률로 인하여 골 흡수가 일어난 것을 알 수 있었으며, 기계 실험을 통해 이를 검증해 봄으로 임플란트 기술의 정확성과 관절 모멘트를 고려한 재활훈련이 필요함을 볼 수 있었다. 또한 골 조직학적 검사를 통해 삽입한 임플란트와 기존 치밀골 사이에 경계면과 기존 치밀골의 외측방향에서 각각 조골세포의 활발한 활동을 통해 골융합이 잘 이루어진 것을 확인하였다. 마지막으로 병리학적 검사를 통하여 표면 조직의 감염은 존재하나, 심층부위(2-3cm)에서는 치유의 흔적과 외부 감염세포에 대한 반응 흔적이 발견됨으로 골융합 임플란트 기술에 따른 감염의 문제는 체내의 면역체계에 의해 극복될 수 있을 것으로 사료된다.

후 기

본 연구는 보건복지부 “차세대 능동형 동작기능 회복 기술 개발- 인체골격 직접연결의지용 골융합 임플란트 개발 및 임상적용에 대한 연구(02-PJ3-PG6-2V03-0004)” 과제로 수행되었다.

참고문헌

1. Branemark, P. I., Rydevik, B. and Skalak, R., “Osseointegration in Skeletal Reconstruction and Joint Replacement,” Quintessence Publishing Co., pp. 159-182, 1997.
2. Branemark, R. and Skalak, R., “An in-vivo method for biomechanical characterization of bone anchored implants,” *Med. Eng. & Phys.*, Vol. 20, Issue 3, pp. 216-219, 1998.
3. Choi, K. J., Kim, S. K., Mun, M. S. and An, J. Y., “Clinical animal test for development of osseointegration implant-application for beagle tibia,” *Fall Congress of Korea Society of Mechanical Engineering*, pp. 1373-1377, 2003.
4. Wang, X., Shanbhag, A. S., Rubash, H. E. and Agrawal, C. M., “Short term effects of bisphosphonates on the biomechanical properties of canine bone,” *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 44, Issue 4, pp. 456-460, 1999.
5. Emeka, N., Michael, H., Konstanze, W., Martin, R.,

- Friedrich, W. N. and Klaus, E., “Implant stability and histomorphometry: a correlation study in human cadavers using stepped cylinder implants,” *Clin. Oral Impl. Res.*, Vol. 14, Issue 5, pp. 601-609, 2003.
6. Holgers, K. M., Thomsen, P., Tjellstrom, A. and Bjurstem, L. M., “Immunohistochemical study of the soft tissue around long-term skin penetrating titanium implants,” *Biomaterials*, Vol. 16, Issue 8, pp. 611-616, 1995.
7. Carter, D. R., Smith, D. J., Spengler, D. M. and Dueland, R. T., “Measurement and analysis of in vivo bone strains on the canine radius and ulna,” *J. Biomech.*, Vol. 13, Issue 1, pp. 27-38, 1980.
8. Gautier, E., Perren, S. M. and Cordey, J., “Strain distribution in plated and unplated sheep tibia : An in vivo experiment,” *Int. J. Care Injured.*, Vol. 31, Suppl. 3, pp. 37-44, 2000.