

# Osseointegration을 증진하는 새로운 임플란트 표면의 개발

-칼슘이온이 결합된 나노구조의 타이타늄 산화막표면 임플란트의 평가-

경북대학교 치의학전문대학원 치주과학교실

조교수 박진우

## 1. 임플란트 표면처리법에 관한 연구동향

골유합의 개념이 소개된 이래 현재 임플란트를 이용한 보철치료는 상실된 치아를 대체하기 위한 예지성 높은 치료방법으로 치과에서 필수적인 치료 목록의 하나가 되었다. 임플란트의 장기적 성공률은 시술부위의 골조직 상태, 즉 골질과 골량에 의해 좌우되며, 특히 상악구치부를 포함하여 골질이 불량한 부위에서 기계절삭면(machined surface)을 가진 임플란트 사용시 비교적 높은 실패율이 보고되었다.

이러한 이유로 골질이 불량한 부위에서 성공률을 높이고 또한 골유합에 필요한 치유기간을 단축하기 위한 임플란트 표면처리에 관해 많은 연구가 이루어져 왔으며, 이러한 표면처리법은 골유합에 최적의 표면조도(surface roughness)와 구조를 가진 임플란트 표면을 형성하는 방법과 임플란트 표면을 생체활성의 물질로 코팅하는 방법의 두 가지의 범주로 나눌 수 있다. Acid etching, grit-blasting에

의해 마이크론 단위의 표면거칠기가 부여된 임플란트는 bone-implant contact과 biomechanical anchorage를 증진하여 기계절삭면을 가진 임플란트와 비교시 불량한 골조직 환경에서도 비교적 높은 성공률을 나타낸다. 마이크론 수준에서 상대적으로 거친 표면은 임플란트의 표면적을 증가시키고, 골형성 세포의 분화를 촉진하여 결과적으로 임플란트의 골형성에 유리한 환경을 제공하는 것으로 알려졌다. 임플란트의 골유합에 가장 적합한 표면조도에 관해서 현재까지 명확히 규정되지는 않았지만, Wennerberg등은 blasting에 의해 처리된 표면일 경우 1-1.5 $\mu$ m의 평균표면조도(Ra)가 골유합에 최적이라고 제시하였다. 하지만 sandblasted/acid etching titanium plasma spraying에 의해 형성된 임플란트는 Wennerberg에 의해 제시된 Ra값의 범위를 넘어선 경우에서도 Ra값의 증가에 따라 골조직과의 부착강도도 증가하는 것으로 나타나 blasted surface이외의 다른 임플란트에도 이러한 개념이 동일하게 적용되지는 않는 것으로 보고되었다.

골유합을 개선하기 위한 다른 방법으로 생체불활성(bioinertness)의 타이타늄과 골조직과의 능동적인 반응을 이루기 위해 생체활성의 표면을 부여함으로써 계면에서의 골형성 반응을 증진시키는 방법이 이용된다. 생체불활성의 타이타늄과 타이타늄 합금은 골조직과 직접적인 결합을 이루지 못하므로, 골조직 반응을 향상하기 위해 여러 종류의 생체활성 재료를 코팅하는 방법이 연구되어 왔고, 이 중 plasma spraying에 의한 hydroxyapatite코팅이 가장 대중적인 방법으로 사용되었으며 이는 초기 골형성을 촉진하는 것으로 알려졌다. 하지만 코팅층의 불균질한 결정조성, 코팅과 타이타늄 계면의 residual stress, 기계물리적 성질의 취약성 등과 함께 타이타늄 표면에서 코팅이 탈락할 수 있다는 잠재적인 문제점을 지니며, 특히 상대적으로 골질이 치밀한 부위에서는 사용이 제한된다.

임플란트의 surface topography(표면지형)와 chemistry는 골유합에 영향을 미치는 가장 중요한 인자이다. 최근의 연구동향은 이들 두 가지 표면특성을 결합함으로써 결과적으로 최적의 골세포 반응을 유도하고, 골유합 후 골조직과의 micromechanical interlocking에 의해 임플란트의 안정성에 중요한 역할을 하는 마이크론 단위의 표면조도와 표면구조를 유지하면서, 부가적으로 골조직 반응을 능동적으로 개선할 수 있는 생체활성 성분을 부여하여 골유합에 상승효과를 이루기 위한 표면처리법에 관해 많은 연구가 이루어지고 있다. Ion implantation, 알칼리처리, 양극산화법을 포함한 전기화학적 처리법 등에 의해 칼슘, 불소 이온 등의 성분과 다공성의 결정성 타이타늄 산화막표면을 부여하는 화학적 표면처리법과 세포부착을 증진하는 펩타이드와 bone morphogenetic protein같은 biomolecule의 결합을 통해 임플란트 주위의 골조직 반응을 향상시킬 수 있는 것으로 보고되었다. 특히 최근의 연구에서 칼슘이온이 결합된 산화막은 시험관적 실험에서 골형성 세포의 부착과 전개, 증

식을 촉진하고 생체에서 골조직과의 생화학적 결합(biochemical bone bonding)을 이루고 초기 골형성 반응을 개선하는 것으로 알려졌다. Plasma spraying이나 기타의 표면처리법에 의해 형성된 마이크론 단위의 두께를 가지는 세라믹 코팅층과는 달리 타이타늄의 우수한 기계적 성질과 전처리법에 의해 형성된 마이크론 단위의 표면특성을 보존하면서, 생체활성의 칼슘이온이 결합된 산화막층의 적용은 surface topography와 chemistry의 결합이라는 관점에서 골유합에 상승효과를 나타낼 수 있는 새로운 표면이 될 수 있을 것이다. 이러한 개념으로 본 교실에서 향후 차세대 임플란트 표면처리법의 하나로 연구중인 칼슘이 결합된 나노구조의 타이타늄 산화막층을 가진 임플란트의 특성과 향후 전망에 관해 소개하고자 한다.

## II. 칼슘이 결합된 나노구조의 산화막층을 가진 임플란트의 평가

### 1) 표면특성

칼슘이 결합된 산화막층을 형성하기 위한 표면처

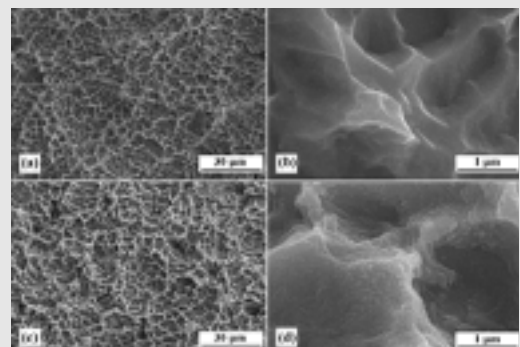


그림 1. Sandblasted/acid-etched surface의 상용의 임플란트(S-plus; Dentsply-Friadent)의 표면처리전(a, b)과 후(c, d)의 전자현미경소견으로 표면처리후 나노구조의 표면층이 형성된 소견을 고배율에서 관찰할 수 있음(d). (a, c) 1,000배, (b, d) 30,000배 소견

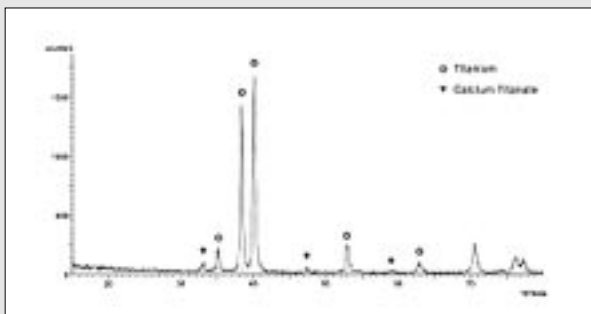


그림 2 칼슘이 결합된 결정성 산화막구조(calcium titanate)를 나타내는 x-ray diffractometry

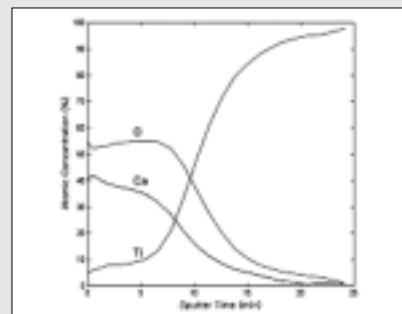


그림 3 Auger electron spectroscopy depth profile

표 1. Sandblasting/acid etching에 의해 형성된 microstructure를 가진 임플란트(S-plus; Dentsply-Friadent)의 칼슘표면처리 전후의 표면조도수치

Implant	$R_a$ ( $\mu\text{m}$ )	$R_q$ ( $\mu\text{m}$ )	$R_z$ ( $\mu\text{m}$ )	$R_{z,DEV}$ ( $\mu\text{m}$ )
Blasted/acid etched	$2.84 \pm 0.42$	$3.65 \pm 0.50$	$22.50 \pm 0.88$	$15.58 \pm 1.17$
Blasted/acid etched + Ca-incorporation	$2.59 \pm 0.36$	$3.45 \pm 0.61$	$21.93 \pm 6.18$	$15.52 \pm 2.38$

$R_a$  = The arithmetic average of the absolute height values of all points of the profile.

$R_q$  = The root mean square of the values of all points of the profile.

$R_z$  = The maximum peak-to-valley height of the entire measurement trace.

$R_{z,DEV}$  = The arithmetic average of the maximum peak to valley height of the roughness values of five consecutive sampling sections over the filtered profile.

리 전후의 sandblasted/acid-etched surface를 가진 상용의 임플란트(S-plus; Dentsply-Friadent)는 적절한 골세포반응과 biomechanical bone bonding을 포함한 골유합에 필수적인 마이크론 단위의 표면조도와 microstructure에서 차이가 없었고, 고배율소견(30,000배)에서 약 100nm크기의 나노구조의 표면층이 형성된 것을 관찰할 수 있었다(그림 1, 표 1). 표면처리후 형성된 칼슘이 결합된 산화막층은 결정성으로(calcium titanate,  $\text{CaTiO}_3$ ), 칼슘이 전체 산화막층에 점진적으로 분포된 양상을 나타내었다(그림 2, 3).

## 2) 골모세포 유사세포(osteoblast-like cell)를 이용한 시험관적 평가

기계질삭면을 가진 순 타이타늄(commmercially pure titanium)과 타이타늄합금(Ti6Al4V)표면, resorbable blast media(RBM)를 이용하여 blasting 처리한 순 타이타늄 표면에 적용된 칼슘이온이 결합된 나노구조의 산화막층은 골모세포 유사세포인 MC3T3-E1세포의 활성화와 증식을 현저히 증가하였으며( $P < 0.001$ ), 배양초기에 골모세포로의 분화를 나타내는 지표인 alkaline phosphatase, osteopontin, osteocalcin mRNA 발현을 현저히 증가하여 초기에

광화된 골조직을 형성할 수 있는 골모세포로의 분화를 촉진하는데 효과가 있는 것으로 나타났다. 특히 blasting등에 의해 미세표면 거칠기가 부여된 타이타늄 표면에 적용된 경우 골모세포의 분화를 촉진하는 효과가 더 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 미세표면 거칠기와 함께 칼슘이 결합된 산화막층 표면을 가진 임플란트의 사용이 생체에서 골세포의 증식과 분화를 초기에 촉진함으로써 골유합을 개선할 수 있음을 의미한다.

### 3) 동물실험을 통한 골유착능 평가

New Zealand White rabbit의 경골에 식립된 칼슘이 결합된 나노구조의 산화막표면은 RBM blasting처리만 시행한 순 타이타늄 임플란트와 비교시 현저히 높은 removal torque value를 나타내었고( $P < 0.05$ ), 또한 기계절삭면을 가진 Ti6Al4V 합금 임플란트에서도 동일하게 칼슘이 결합된 산화막표면은 대조군 임플란트에 비해 현저히 높은 removal torque value를 보였다( $P < 0.05$ ). 제거된 blasted surface 임플란트를 세척후 전자현미경으로

관찰한 결과 칼슘이 결합된 실험군 임플란트는 원래 망상골조직이 거의 존재하지 않는 골수강부위에 위치했던 임플란트 부위에서 강하게 부착된 상당량의 잔존 골조직을 확인할 수 있었고, 제거된 임플란트는 표면처리후 형성된 나노구조를 그대로 유지하여 기계적 성질 또한 우수한 것으로 나타났다(그림 4). 조직학적 관찰 결과 칼슘이 결합된 산화막층을 가진 임플란트는 골내막 부위에서 임플란트 표면을 따라 활발한 신생골의 하방성장 양상을 보였고, 골수강부위에 위치한 임플란트 표면을 따라 많은 신생골 침착이 관찰되었다(그림 5, 6). 전체 임플란트 길이에 대한 골접촉률(bone-to-implant contact ratio)은 칼슘이 결합된 산화막층을 가진 blasted surface의 순 타이타늄 임플란트와(47 vs 29%;  $P < 0.01$ ) 기계절삭면의 Ti6Al4V 임플란트에서(36.7% vs 20%;  $P < 0.01$ ) 모두 대조군에 비해 현저히 높은 수치를 나타내었다. 상기의 결과에서 칼슘이 결합된 나노구조의 산화막층은 임플란트의 골전도성과 골내 안정성을 모두 증진하는 것으로 나타났다.

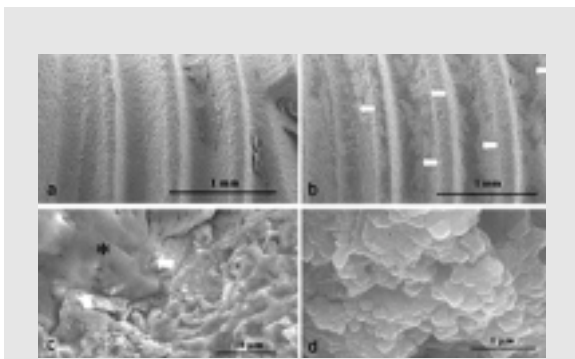


그림 4. 토끼경골에 식립후 치유6주후 제거한 blasted surface 임플란트(a), 칼슘이 결합된 산화막층을 가진 blasted surface 임플란트(b-d)의 전자현미경 소견. 골수강부위에 위치했던 임플란트 표면에 강하게 부착된 상당량의 잔존 골조직(화살표)을 관찰할 수 있으며(b), 골조직과 임플란트의 microstructure 사이에 긴밀한 결합양상을 나타냄(c, \*; 골조직). 고배율소견에서 원래의 나노구조를 잘 유지하고 있음을 관찰할 수 있음(d). (a, b) 50배, (c) 3,000배, (d) 30,000배 소견.

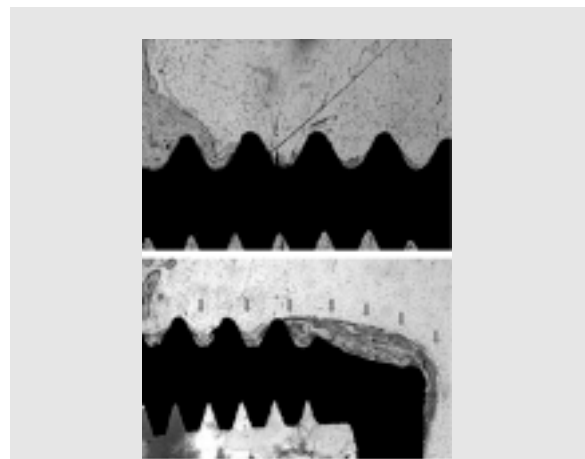


그림 5. 토끼경골에 식립한 blasted surface 임플란트(상), 칼슘이 결합된 blasted surface 임플란트(하)의 치유6주의 조직학적 소견. 골내막 직하부 부위에서만 제한적인 신생골 형성을 보이는 blasted surface와 달리 칼슘이 결합된 blasted surface는 주위 골조직이 존재하지 않는 골수강부위에 위치한 임플란트상에 활발한 신생골 침착을 나타냄(화살표).

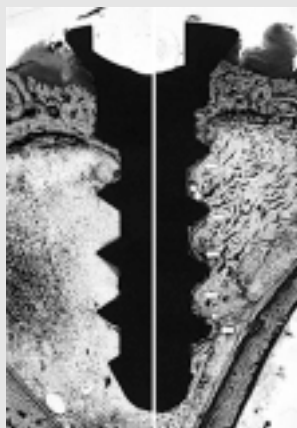


그림 6. 토끼경골에 식립한 Ti6Al4V machined surface 임플란트(좌). 칼슘이 결합된 machined surface 임플란트(우)의 치유6주의 조직학적 소견. 칼슘이 결합된 산화막 표면에서 높은 bone-implant contact 양상(화살표)을 관찰할 수 있음.

### III. 임플란트 표면처리법에 관한 향후 전망

상기에 소개한 칼슘이 결합된 나노구조의 산화막 표면은 machining, blasting, blasting/acid etching에 의해 형성된 임플란트의 고유한 microstructure와 표면조도를 유지하였고, 시험관적 평가에서 골세포의 증식과 분화를 촉진하고 동물실험에서 골형성 반응을 증진하는 것으로 나타났다. 생체불활성의 금속성 임플란트에 대한 골조직 반응을 향상시키기 위해 plasma spraying에 의해 형성된 hydroxyapatite 표면은 코팅층이 50 $\mu$ m 내외로 두껍고, 코팅자체의 물리적 취약성을 가진다. 이러한 문제점으로 인해 magnetron sputtering sol-gel법, 전기화학적방법 등을 이용한 calcium phosphate 코팅법이 연구되고 있으며, 향후 plasma spraying에 의한 hydroxyapatite 코팅을 어느 정도 대체할 것으로 예상된다. 하지만 세라믹 코팅법은 생체내에서 활성을 나타내기 위해서는 최소한의 코팅층의 두께가 필요하며, 이로 인해 전처리법에 의해 형성된 마이크론 수준의 표면구조를 폐쇄한다는 단점이 있다.

또한 세라믹 코팅층의 존재는 타이타늄으로 제작된 임플란트가 가진 우수한 기계적 성질을 감소한다. Calcium phosphate 코팅과 더불어 ion implantation이나 양극산화법에 의해 임플란트 표면에 도입된 칼슘, 마그네슘 등의 성분이 골조직 반응을 개선할 수 있음이 제시되었고, 현재 상용의 임플란트 표면의 하나인 미량의 불소이온이 결합된 blasted surface 임플란트는 골모세포 분화를 촉진하고 초기 골형성을 증진할 수 있는 것으로 보고되었다. 골유합을 증진하기 위한 이러한 화학적인 표면처리법과 더불어 임플란트 주위로 국소적인 골조직 반응을 개선하기 위해 성장인자 등을 포함한 골형성 촉진인자 또는 세포부착을 증진하는 특정 sequence를 가진 펩타이드를 임플란트 표면에 적용하는 방법이 현재 향후에 적용될 중요한 표면처리법의 하나로서 연구되고 있다. 골조직 반응을 개선하기 위한 성장인자로 bone morphogenetic protein, transforming growth factor- $\beta$ 1, platelet-derived growth factor, insulin-like growth factor-1, 2 등이 임플란트에 적용가능한 후보물질로 제시되었다. 세포부착을 증진하는 펩타이드나 성장인자 등이 적용된 임플란트는 동물실험에서 양호한 골조직 반응을 나타내었다. 하지만 금속성의 임플란트 표면에 이러한 biomolecule의 안정적인 결합과 생체내에서의 최적의 방출과 작용을 위한 효과적인 적용방법에 관해서는 더 연구가 필요한 실정이다.

결론적으로 향후 시장에 소개될 임플란트는 최적의 마이크론 단위의 topography에 골조직 반응을 증진할 수 있는 chemistry가 결합된 임플란트가 대체를 이룰 것으로 예상되며, 이와 더불어 불량한 골질과 골량을 가진 부위에 식립된 임플란트 주위로 국소적인 골형성을 촉진하기 위해 약물, 성장인자 등이 결합된 골조직 치료의 개념이 부여된 임플란트의 도입 또한 기대된다. 이러한 개념에 근거하여 blasting, acid etching 등에 의해 마이크론 단위

의 적절한 표면조도와 구조가 부여된 임플란트에 적용된 칼슘이 결합된 나노구조의 산화막층은 마이크로톤 수준의 topography가 가지는 장점과 더불어, 임플란트상에 치유초기에 골세포의 증식과 분화를

촉진함으로써 결과적으로 microrough surface 임플란트의 골유합에 상승효과를 나타낼 것으로 기대되며, 이는 향후 효과적인 임플란트 표면의 하나가 될 것으로 기대된다.

## 참 고 문 헌

1. Boyan BD, Lössdorfer S, Wang L, Zhao G, Lohmann CH, Cochran DL, Schwartz Z. Osteoblast generate an osteogenic microenvironment when grown on surfaces with rough microtopographies. *Eur Cell Mater* 2003;6:22-27.
2. Boyne P, Jones SD. Demonstration of the osteoinductive effect of bone morphogenetic protein within endosseous dental implants. *Implant Dent* 2004;13:180-184.
3. Cochran DL, Buser D, ten Bruggenkate CM, Weingart D, Taylor TM, Bernard JP, Peters F, Simpson JP. The use of reduced healing times on ITI implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: Early results from clinical trials on ITI SLA implants. *Clin Oral Implants Res* 2002;13:144-153.
4. Cooper LF, Zhou Y, Takebe J, Guo J, Abron A, Holmen A, Ellingsen JE. Fluoride modification effects on osteoblast behavior and bone formation at TiO<sub>2</sub> grit-blasted c.p. titanium endosseous implants. *Biomaterials* 2006;27:926-936.
5. Davies JE. Mechanism of endosseous integration. *Int J Prosthodont* 1998;11:391-401.
6. de Maeztu MA, Alava JI, Gay-Escoda C. Ion implantation: surface treatment for improving the bone integration of titanium and Ti6Al4V implants. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:57-62.
7. Ellingsen JE, Johansson CB, Wennerberg A, Holmen A. Improved retention and bone-to-implant contact with fluoride-modified titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:659-666.
8. Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: a 5-year analysis. *J Periodontol* 1991;62:2-4.
9. Jino T, Kirk SK, Morita S, Goldberg VM. Effects of calcium ion implantation on osseointegration of surface blasted titanium alloy femoral implants in a canine total hip arthroplasty model. *J Arthroplasty* 2004;19:102-109.
10. Khang W, Feldman S, Hawley CE. A multi-center study comparing dual acid-etched and machined-surfaced implants in various bone qualities. *J Periodontol* 2001;72:1384-1390.
11. Nayab SN, Jones FH, Olsen L. Effects of calcium ion implantation on human bone cell interaction with titanium. *Biomaterials* 2005;26:4717-4727.
12. Schneider GB, Perinpanayagam H, Clegg M, Zaharias R, Seabold D, Keller J, Stanford C. Implant surface roughness affects osteoblast gene expression. *J Dent Res* 2003;82:372-376.
13. Sul YT. The significance of the surface properties of oxidized titanium to the bone response: special emphasis on potential biochemical bonding of oxidized titanium implant. *Biomaterials* 2003;24:3893-3907.
14. Szmukler-Moncler S, Perrin D, Bernard JP, Pointaire P. Biological properties of acid etched titanium surface. Effect of sandblasting on bone anchorage. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2004;15:149-159.
15. Tatakis DN, Koh A, Jin L, Wozney JM, Rohrer MD, Wikesjo UM. Peri-implant bone regeneration using recombinant human bone morphogenetic protein-2 in a canine model: a dose-response study. *J Periodontol Res* 2002;37:98-100.
16. Vercaigne S, Wolke JG, Naert I, Jansen JA. A histological evaluation of TiO<sub>2</sub>-grit blasted and Ca-P magnetron sputter coated implants placed into the trabecular bone of the goat: Part 2. *Clin Oral Implants Res* 2000;11:314-324.
17. Wennerberg A, Albrektsson T, Lausmaa J. A torque and histomorphometric evaluation of c.p. titanium screws, blasted with 25 $\mu$ m and 75 $\mu$ m sized particles of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. *J Biomed Mater Res* 1996;30:251-260.
18. Wennerberg A, Hallgren C, Johansson C, Daneelli S. A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughness. *Clin Oral Implants Res* 1998;9:11-19.