

치과 임플란트에서의 분자생물학적 연구

지유진 · 류동목 · 이덕원

경희대학교 동서신의학병원 치대병원 구강악안면외과

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2008;34:616-621)

MOLECULAR BIOLOGY IN DENTAL IMPLANT

Yu-Jin Jee, Dong-Mok Ryu, Deok-Won Lee

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Dental Hospital,
East-West Neo Medical Center, Kyunghee Univeristy*

Osseointegration is a result of bone formation and bone regeneration processes, which takes place at the interface between bone and implant, and it indicates a rigid fixation that can be stably maintained while functional loading is applied inside the oral cavity as well as after implant placement. Although many researches were carried out about osseointegration mechanism, but cellular and molecular events have not been clarified. With recent development of molecular biology, some researches have examined biological determinants, such as cytokine, growth factors, bone matrix proteins, during osseointegration between bone and implant surface, other researches attempted to study the ways to increase bone formation by adhering protein to implant surface or by inserting growth factors during implant placement. Cellular research on the reaction of osteoblast especially to surface morphology (e.g. increased roughness) has been carried out and found that the surface roughness of titanium implant affects the growth of osteoblast, cytokine formation and mineralization. While molecular biological research in dental implant is burgeoning. Yet, its results are insignificant.

We have been studying the roles of growth factors during osseointegration, comparing different manifestations of growth factors by studying the effect of osseointegration that varied by implant surface. Of many growth factors, TGF- β , IGF-I, BMP2, and BMP4, which plays a significant role in bone formation, were selected, and examined if these growth factors are manifested during osseointegration. The purpose of this article is to present result of our researches and encourage molecular researches in dental implant.

Key words: Osseointegration, Molecular biology, Implant, Growth factor

I. 서 론

현재 치과계에서는 가장 주목받고 있는 분야는 인공치아 이식학 즉 임플란트이다. 1977년 Branemark에 의해 골유착(임플란트와 골과의 결합) 개념이 정의되면서 인공치아 이식이 사람의 구강내에 적용되었고 이후 수많은 종류의 임플란트가 개발되어 공급되어 전 세계적으로 사용되고 있다. 그동안 많은 발전이 있어 현재는 치아 발거후 즉시 식립도 가능하여졌고 식립후 즉시 씹을 수 있게 하는 방법도 조심스럽게 시도되고 있다. 최근까지 생체 친화적이며 골과의 유착률을 높이고 저작시에도 강하게 견딜 수 있는 임플란트에 대한 연구가 전 세계적으로 진행되고 있다. 이들 연구들의 궁극적인 목표는 치아발치후 즉시 임플란트를 식립하고 즉각적인 저작운동이 가능하게 하는 데 두고 있다. 그러나 이러한 연구의 집중에도 불구하고 아직까지 임플란트와 골과의 결합시 일어나는 분자생

물학적 기전은 밝혀지지 않았고 많은 의문점을 가지고 있다. 최근 의학분야에서 분자생물학이 발전함에 따라 치과 임플란트학에 세포물리학과 분자생물학을 비롯한 다양한 분야의 접목이 이루어지고 있으며 이를 통해 골결합이 일어나는 임플란트 주변의 골개조 현상을 세포수준 또는 분자수준에서 검사가 가능하여졌고 골유착에 관여하는 생물학적 중요 요인에 대한 관찰이 시도되어지고 있다. 또한 임플란트 주변의 환경을 변화시켜 골유착 과정의 속도를 조절하고 골개조 현상을 촉진할 수 있는 방법도 모색되어지고 있다.

이러한 치과임플란트에서 분자생물학적 연구는 국외에서는 매우 활발히 진행되고 있으나 국내에서는 연구가 매우 부족한 실정이다. 이에 본 저자는 골유착 기전에 주된 작용을 하는 유전자를 찾기 위하여 연구를 시행하여 왔다. 이에 대한 연구 결과와 문헌고찰을 통해 얻은 다소의 지견을 보고하여 이와 유사한 연구들의 활성화에 이바지 하고자 한다.

II. 본 론

1. 연구동향

치과 임플란트는 치과학문에서 매우 획기적인 분야로서 기존의 치과 보철학문의 치료개념 자체를 바꾸었다. 그래서 전

지 유 진

서울 강동구 상일동 149

경희대학교 동서신의학병원 치대병원 구강악안면외과

Yu-Jin Jee

Dept. of OMFS, Dental Hospital, East-West Neo Medical Center, Kyung-Hee University,

149 Sangil-Dong, Gangdong-Gu, Seoul, South Korea

Tel: 82-2-440-7500, Fax: 82-2-440-7549

E-mail: omsjy@khu.ac.kr

통의 치료방법으로 해결하지 못하였던 많은 문제를 해결할 수 있게 되었다. 1977년 Brånemark⁹⁾에 의해 임플란트가 구강영역에 도입된 이래 생체친화성이 뛰어난 타이타늄 임플란트는 30년이 넘는 동안 세계적으로 널리 사용되어왔으며 machined surface 타이타늄의 골유착에 있어서 장기간의 높은 임상적 성공률이 많은 문헌에서 보고되어 왔다²⁾. 그러나 골유착까지 1년 이상의 기간이 필요하였고 골의 양과 질이 불량한 경우에는 골유착 효과는 현저히 떨어지며³⁾ 당뇨, 고혈압, 골다공증과 같은 만성 소모성 질환을 가지고 있는 환자나 흡연과 같은 환경에서는 임플란트의 생존율이 매우 낮아진다. 그래서 임플란트의 생존율을 높이기 위한 방법으로 표면의 거칠기를 증가시켜 표면적을 넓히는 것에 대한 연구가 진행되어 왔으며 많은 다양한 표면처리 방식이 보고되었고 상품화되어 임상에 적용되면서 과거에 사용되어왔던 machined surface 타이타늄 임플란트보다 우수한 골유착 효과를 보고하여 왔다^{4,5)}. 이러한 표면처리 방법에는 Titanium plasma spray, Hydroxyapatite coated surface, Blasted surface, Etched surface, Blasted and etched surface, Oxidized surface 등이 있으며 이러한 표면의 임플란트는 매끈한 표면의 임플란트 보다 골과 임플란트의 접촉이 더 많이 일어나고 많은 기계적 하중에 안정되게 유지된다고 보고 되었다. 그래서 향상된 골유착 효과를 가진 임플란트를 이용해 치아 발치후 즉시 임플란트를 식립하는 것이 가능하여졌고 치료기간 또한 6개월 이하로 상당히 단축되었으며 현재는 즉시 저작과 같은 부하를 가할려는 시도가 조심스럽게 진행되고 있다. 이러한 현재까지의 임플란트 발전 방향에서 그동안 간과되어졌던 것이 골유착에 대한 기전이였다. 비록 조직학적인 임플란트 표면과 골사이의 결합양상에 대해 보고되어졌으나 거친 표면을 가졌을 경우 골유착이 증가하는 것에 대한 기전과 이때 작용하는 세포단위에서의 기전은 여전히 밝혀지지 않았다. 그 결과 여러 표면처리된 임플란트에서 골유착 효과가 60% 이상을 보고한 문헌은 없었다. 그래서 치과 임플란트 학문에서 치료기간이 짧으면서 즉시 부하를 가할 수 있는 임플란트를 개발하는 것이 궁극적 목적으로 설정되어 표면처리에 대한 새로운 연구가 시도되고 있다^{6,9)}. 즉 임플란트 식립시 골형성 능력을 촉진시키는 성장인자를 주입한다든지¹⁰⁾ 또는 골세포가 표면에 부착되기 용이하게 부착단백질로 표면을 생화학 처리하는 방법등이 연구되어지고 있으나 아직까지 그 보고는 미비하며 상품화 단계에 이르기까지는 해결되어야 할 점이 많이 있다. 특히 골유착에 대한 기전 규명이 그 선결과제로 제시되고 있다. 최근에 와서 Ogawa 등^{11,12)}은 골유착 과정을 조절하는 특정 유전자가 있지 않을까라는 의문점을 제시하고 연구를 시행하여 골유착시 bone ECM gene expression에 대해 보고하였다. 그러나 결론적으로 골유착에 대한 분자생물학적 연구는 아직까지 시작단계에 불과하다.

2. 골유착시 성장인자의 발현

골유착(osseointegration)이란 골과 임플란트 사이의 계면에서

발생하는 골형성, 골재형성 과정의 결과로서 임플란트 식립 후 뿐 만 아니라 구강내에서 기능적 부하(functional loading)가 가해지는 동안 안정적으로 유지될 수 있는 단단한 결합(rigid fixation)을 의미한다. 불량한 골질에서의 임플란트 성공과 장기간의 안정성등을 위하여 골유착의 기전에 대한 연구는 많이 시행되어져왔고 이러한 골유착을 증가시키기 위한 방법으로 임플란트 디자인, 특히 표면과 관련하여 다양한 표면들이 개발되어 상품화되고 있다. 또한 초기 골유착 효과를 증가시키기 위하여 골형성을 증가시킬 수 있는 PRP, growth factors 등의 국소적 조절인자를 투여하는 방법들이 알려져 왔고 임상에서 많이 적용되고 있다. 그러나 아직까지 골유착에 대한 세포수준에서의 기전(cellular and molecular events)은 아직까지 명확하지 않다. 최근 분자생물학의 발전으로 임플란트 표면과 골사이에서 골유착시 cytokine, growth factor, bone matrix protein 등과 같은 biologic determinants에 대한 연구가 시행되고 있으며 또한 임플란트 디자인, 특히 표면과 관련하여 표면형태, 거칠기 증가에 대한 골아세포에 대한 반응과 같은 세포수준의 연구들이 시행되고 있다. 본 저자들은 이러한 생물학적 인자들중 골결손부에서 골형성에 중요한 작용을 하는 것으로 알려진 성장인자들중 골형성과 관련된 TGF- β , IGF-I, BMP2, BMP4을 선택하여 1) growth factors들이 골 유착시 발현되는지 여부 2) 골유착시 성장인들의 발현이 일반적 골결손부 골치유시 발현과 어떠한 차이를 보이는 가 3) 임플란트 표면 차이에 따라 어떠한 발현 차이를 보이는 가 등을 알아보고자 다음과 같은 실험을 진행하였다^{13,14,15)}.

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

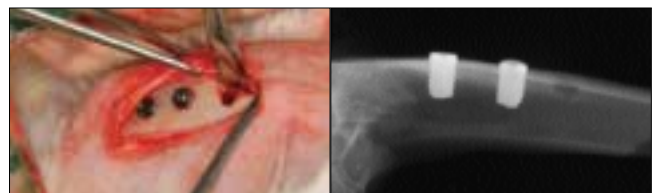


Fig. 1. Operation and radiographic feature

실험군은 다시 RBM surface 임플란트를 식립한 군 (R group)과 Machined surface 임플란트를 식립한 군 (M group)으로 분류하였으며 대조군은 직경 3mm, 높이 5mm의 와동만 형성한 군 (C group), 아무런 처치도 하지 않은 인접골 (N group)으로 선정하였다(Fig.1).

조직 표본제작을 위해 수술 후 3일, 7일, 14일, 28일에 희생시킨 2마리의 좌측 경골부에서 임플란트와 골 결손부에서 직경 7mm 원통 형태의 골을 채취하였고, 식립부에서 10mm 떨어진

아무런 처치를 하지 않은 인접골을 부가적으로 채취하고 와동을 형성한 군과 같이 대조군으로 하였다. 골형성에 관여하는 TGF- β , IGF-I, BMP2, BMP4의 발현을 RT-PCR analysis를 이용하여 발현여부를 관찰하였다.

실험결과 TGF- β , IGF-I, BMP2, BMP4 등의 성장인자들은 임플란트를 식립한 군에서 모두 발현되었다. 골형성 반응이 일어나지 않는 N 군과 비교해 높은 발현상을 보여 임플란트 주변으로 골형성 반응이 일어날 때 이들 성장인자들이 발현되어 골유착에 중요한 역할을 담당함을 알 수 있었다. 특히 골형성 반응이 일어나는 또 다른 대조군인 C 군과 비교하면 IGF-I은 임플란트를 식립한 군에서 상대적으로 높게 발현되었다. IGF-I은 일반적으로 골아세포들이 골형성을 할 수 있도록 자극하는 성장인자로 알려 졌다. 이 인자의 발현이 높게 발현됨은 임플란트와 관련된 골형성이 보통의 골결손부에서 일어나는 골형성과는 다름을 의미할 수 있다. 즉 다른 성장인자들 보다 IGF-I의 골아세포 자극이 골유착에 더 큰 영향을 미치는 것으로 여겨질 수 있다. TGF- β 역시 IGF-I과 유사한 발현상이 관찰되었다. 특히 14일, 28일에서 거친 표면 임플란트에서(R군) 보다 높은 발현상이 관찰되었다. 이는 14일, 28일에서 R군의 BIC가 M 군보다 높게 측정된 결과와 연결지어 보면 증가된 TGF- β 의 발현으로 인해 골유착의 증가를 보임을 알 수 있다. 즉 거친 표면의 임플란트의 경우 TGF- β 의 발현이 증가되어 골아세포 이주, 골기질형성 등의 작용을 통해 보다 많은 골형성이 일어남을 의미한다.

골아 세포가 생산하는 TGF- β 는 BMP 와 같은 골형성 유도능은 없지만 골막에 대한 투여실험 등에서 골형성을 촉진할 수 있다는 것이 알려져 있다. bone-implant integration 에 있어서 TGF- β 가 어떠한 역할을 하는지 명확히 밝혀지진 않았지만 혈소판유래성장인자와 같이 그것들은 혈소판에 의해 집성되고 혈소판에서 발견되며 이는 골형성을 기시할 뿐만 아니라 골이 식편의 성숙화를 야기 시키는 성장인자의 기전을 나타낼 것으로 보인다. 이 연구를 통해 TGF- β 는 거친 표면의 임플란트에서 더 많이 발현 됨을 알 수 있었고 이는 TGF- β 가 임플란트 주변의 골 형성 동안 골아세포의 이주, 분화, 세포의 기질 합성, 혈관 형성에 중요한 조절 역할을 한다는 것을 의미한다. 본 실험에서 BMP2 보다는 BMP4에서 발현이 초기인 3일, 7일에 대조군에 비해 높게 발현됨이 관찰되었다. 이는 임플란트 식립후 초기 골형성 기전에 BMP4가 중요한 기전을 담당하는 것을 의미한다. 또한 14일, 28일에는 R 군에서 높게 발현되어 표면의 거칠기 정도에 따라 BMP4의 발현도 증가되는 것으로 보아 TGF- β 와 같이 거친 표면에서 골유착이 증가하는 원인요소가 되는 것으로 분석되었다.(Fig.2).

이상의 결과를 통해 골 성장 인자들은 임플란트 매식후 골유착 기전에도 관여하며 표면의 성질에 따라 성장인자의 발현에 차이가 생겨 골유착이 증가된다는 것을 알 수 있었으며 따라서 이러한 성장인자들이 임플란트와 관련된 골형성에 중요한 조절인자임을 알 수 있었다.

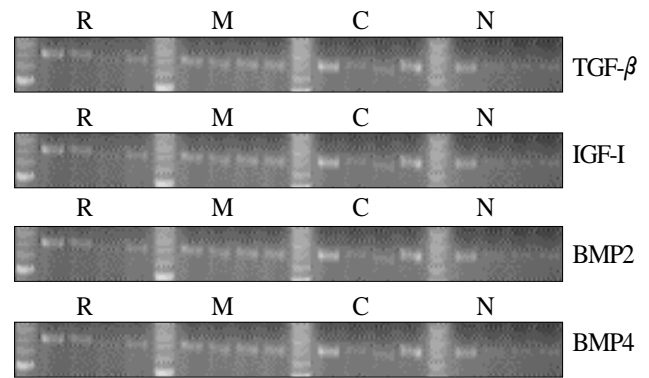


Fig. 2. Expression of Growth factors

이와 유사한 연구중에 Schierano등²⁵⁾은 다른 표면을 가진 임플란트의 골유착 과정중 TGF- β , BMP4의 발현 양상을 관찰하여 보고하였다. 실험은 porous titanium implant 와 machined implant 식립후 15, 30, 60, 90일 후 임플란트 주변 골을 채취하여 RT-PCR 분석을 통해 TGF- β , BMP4의 발현양상을 분석하였다. TGF- β 의 경우 porous titanium implant군에서 초기에 높게 발현되나 30일 감소되었고 60일에는 다시 증가되어 발현되었고 machined implant군에서는 초기부터 감소되어 발현됨이 관찰되었다. BMP4의 경우 porous titanium implant군에서 초기에 높게 발현되나 30, 60일에는 감소되어 발현되었고 machined implant군에서는 60일까지 발현양이 증가되지 않았고 90일까지 감소되며 발현되는 것을 관찰하였다. 이상의 결과로 machined surface 보다는 porous surface 주변에서 초기에 주로 TGF- β , BMP4의 작용에 의해 골형성 이루어 진다고 보고하였다(Fig 3). 특히 BMP4 성장인자의 경우 골형성능을 가지고 있음에도 불구하고 그동안 임플란트 골형성에 그 역할이 알려지지 않았었는데 이 실험을 통해 골유착과 관련된 중요 유전자임을 제시하였다. 이 결과는 본 저자의 실험결과와 매우 유사한 것으로서 향후에는 BMP4와 관련된 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

3. 분자생물학적 연구의 현황

골유착(osseointegration)이란 골과 임플란트 사이의 계면에서 발생하는 골형성, 골재형성 과정의 결과로서 임플란트 식립 후 뿐 만 아니라 구강내에서 기능적 부하(functional loading)가 가해지는 동안 안정적으로 유지될 수 있는 단단한 결합(rigid fixation)을 의미한다¹⁶⁾. 불량한 골질에서의 임플란트 성공과 장기간의 안정성등을 위하여 골유착의 기전에 대한 연구는 많이 시행되어져왔고 이러한 골유착을 증가시키기 위한 방법으로 임플란트 디자인, 특히 표면과 관련하여 다양한 표면들이 개발되어 상품화되고 있다^{17,18)}. 또한 초기 골유착 효과를 증가시키기 위하여 골형성을 증가시킬 수 있는 성장호르몬¹⁹⁾, 성장인자^{20,21)}, PRP²²⁾ 등의 국소적 조절인자를 투여하는 방법들이 많이 연구되어져 왔으며 임상에서도 많이 적용되고 있다. 그러나 아직까지 골유착에 대한 세포수준에서의 기전(cellular and mol-

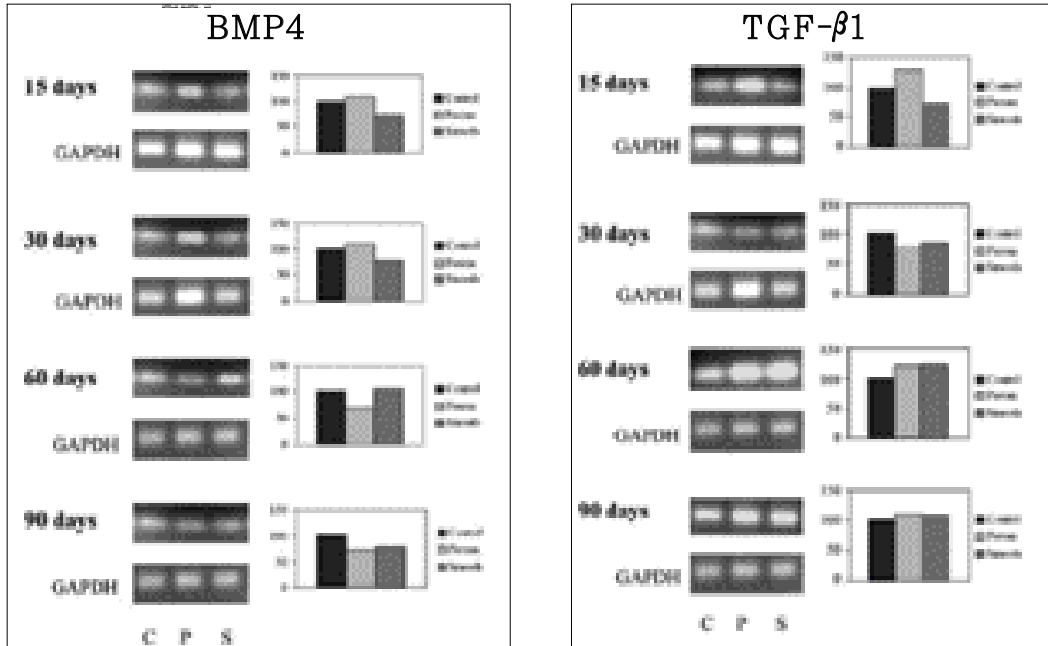


Fig. 3. RT-PCR analysis of TGF-β, BMP4 expression in machined and porous peri-implanted bones at different healing phases. (Schierano G et al. J Periodontol 2005;76:1710-20)

ecular events)은 아직까지 명확하지 않다⁴⁾. 최근 분자생물학의 발전으로 임플란트 표면과 골사이에서 골유착시 cytokine, growth factor, bone matrix protein 등과 같은 biologic determinants에 대한 연구가 시행되고 있으며 또한 임플란트 디자인, 특히 표면과 관련하여 표면형태, 거칠기 증가에 대한 골아세포에 대한 반응과 같은 세포수준의 연구들이 시행되고 있다^{16,23,24,25)}. 이들 연구들의 주 목적은 이러한 생물학적 인자들중 골결손부에서 골형성에 중요한 작용을 하는 것으로 알려진 성장인자에 초점을 맞추어 골유착시 이러한 성장인자들의 역할을 규명하는 것이다. 더불어 이러한 성장인자들의 분비를 촉진시킬 수 있는 방법을 찾아 골유착의 효과를 증진시키는 것이다. 가장 연구가 많이 되어지고 있는 것이 BMP²⁶⁾, TGF²⁷⁾, IGF²⁸⁾와 같은 성장인자를 외인성으로 주입한다든지, 자기장, 초음파, 레이저등을 이용하여 내인성 성장인자들의 분비를 촉진시키는 것이다. 이러한 방법들은 이미 임상에서도 적용되고 있고 그 효과가 많은 문헌에 보고되어지고 있다²⁹⁾.

치과 임플란트에서 세포수준의 연구는 크게 두 형태로 동물 실험 연구와 골형성 세포를 이용한 실험실 연구들이 시행되고 있다. 실험실 연구는 주로 골아세포(osteoblast), 골양세포(osteoblast like cell) 등을 이용하여 다양한 surface를 가진 titanium disc에서의 세포분화, 증식, 유전자 발현등을 관찰하고 있다. Masaki 등³⁰⁾은 titanium dioxide grit blasting(TiOBlast™), grit blasted and etched with hydrofluoric acid (Osseospeed™), grit blasted and etched (SLA-1), grit blasted, etched and rinsed with N2 protection and stored in isotonic NaCl(SLA-2) 표면을 가진 titanium disc에서 osteoblast를 배양하여 ALP, Cbfa1/RUNX-2, Osterix, Type I Collagen, Osteocalcin, BSPII등의 골기질 유전자들의 발현양상을

관찰하였다. 그 결과 ALP유전자가 SLA-2 표면에 배양된 osteoblast에서 유의성있게 발현되며 Cbfa1/RUNX-2 유전자는 TiOBlast™와 Osseospeed™에서 높게 발현됨을 관찰하고 이와 같이 임플란트 표면의 성질이 골형성 유전자 및 증배염성 골모세포등에 영향을 미쳐 골아세포의 분화를 조절한다고 주장하였다(Fig. 4).

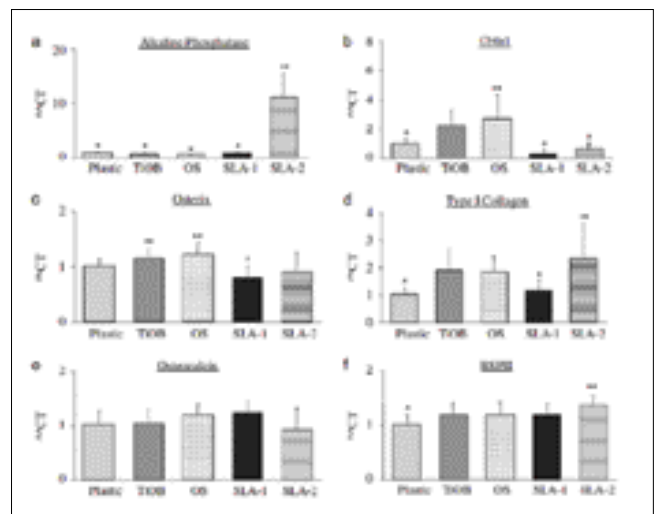


Fig. 4. RT-PCR analysis of bone matrix proteins expression in different titanium surfaces. (Masaki et al. Clin Oral Impl Res. 2005;16:650-656)

최근에는 분자생물학의 발전으로 인간게놈 프로젝트에 의해 많은 유전자들이 밝혀지고 있고 Microarray와 같은 대량의 유전자 검사를 통하여 특이 유전자를 발견하는 연구가 의학계

에서 활성화되어 있다³¹⁾. 치과 임플란트에서도 다량의 유전자 검사를 통하여 특이 유전자를 발견하려는 연구가 시도되고 있다. 김 등³²⁾은 cDNA Microarray 방법을 이용하여 임플란트 표면 형태에 따라 5000개의 유전자 발현차이를 연구하여 양극 산화 타이타늄 임플란트에서 Heat shock protein - 90 (HSP-90)이 강하게 발현되고, 이와 반대로 Retinol dehydrogenase genes은 약하게 발현되며 이러한 유전자 발현의 차이가 골유착의 정도를 결정한다고 보고하였다. Ogawa 등^{11,12,33)}은 치과 임플란트에서 의미 있는 분자생물학적 연구를 시행하였다. 이들은 ‘다른 표면에서 다른 조직학적 골형성 소견을 보이는 것은 유전자 발현차이’라는 가설하에 turned surface, dual acid-etched(DE) surface에서 골기질 유전자의 발현차이를 연구하였다. 연구결과 DE surface에서 초기에 osteonectin, osteocalcin, BSP II, Collagen III, integrin beta 1와 beta 3, 같은 골기질 유전자들이 강하게 발현됨을 관찰하였고 이러한 유전자 발현의 차이는 임플란트 표면의 형태(topography)가 골아세포의 증식과 분화기전을 자극하여 생기며 그 결과 골형성의 정도가 결정된다고 보고하였다. 이후 연구에서는 ‘골유착 기전이 정상적 골치유 기전과 다르다’는 가정하에 임플란트 골유착시 특이하게 발현하는 유전자를 찾기 위하여 Differential Display-Polymerase Chain-Reaction (DD-PCR)이라는 유전자 검사방법을 이용한 연구를 발표하였다. 이 연구에서 3개의 특이 유전자를 발견하여 각각 그 이름을 TO1, TO2, TO3로 명명하였고 이들 유전자들이 특히 acid-etched surface에서 강하게 발현되고 골유착에 중요한 역할을 하는 유전자로 보고하였다.

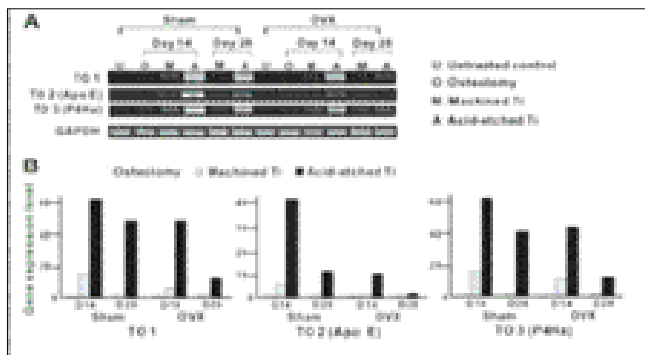


Fig. 5. Verification of the isolated implant-specific gene transcripts in an osseointegration-unfavorable, gonadal estrogen deficiency model. (Ogawa T et al. J Dent Res 2006;85:566-70)

Ⅲ. 결 론

치과 임플란트는 재료학적인 발전을 거듭하여 현재는 95% 이상의 성공률을 보고하고 있다³⁴⁾. 이와 같은 성공에 중요하게 여겨지는 요소 중의 하나는 임플란트 표면의 형태이고 이러한 표면의 형태에 따라 다양한 생물학적 요소들이 반응하여 골유착의 정도를 결정한다. 특히 성장인자와 같은 사이토카인, 골기질 등이 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려졌으며 이는

유전자 발현과 같은 분자생물학적 연구를 통하여 밝혀지고 있다. 그러나 골유착의 분자생물학적 기전은 아직까지는 불명확하다. 향후 연구는 새로운 분자생물학적 연구기법을 이용하여 임플란트의 골유착에 중요하게 발현되는 특이 유전자를 찾는 것이고 이러한 유전자를 이용한 생물학적 임플란트를 만드는 것이 치과 임플란트학에서의 궁극적 연구목적이 될 것이다.

참고문헌

1. Branemark PI: Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw: experience from a 10 year period. Scand J Plast Reconstr Surg Suppl 1977;16:1-132.
2. Johansson CB, Han CH, Wennerberg A, Albrektsson T: A Quantitative comparison of machined commercially pure titanium and titanium aluminum-vanadium implants in rabbit bone Int J Oral Maxillofac Impl 1998;13:315-321.
3. Lugero GG, Caparbo V, Guzzo ML, Konig B Jr, Jorgetti V: Histomorphometric evaluation of titanium implants in osteoporotic rabbits. Impl Dent 2000;9:303-309.
4. Schwartz Z, Kieswetter K, Dean DD, Boyan BD: Underlying mechanism at the bone-surface interface during regeneration. J Periodont Res 1997;32:166-171.
5. Kieswetter K, Schwartz Z, Hummert TW, Cochran DL, Simpson J, Dean DD et al: Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells. J Biomed Mater Res 1996;32:55-63.
6. Ysander M, Branemark R, Olmarker K, Myers RR: Intramedullary osseointegration: development of a rodent model and study of histology and neuropeptide changes around titanium implants. J Rehab Res Devel 2001;38:183-190.
7. Iokic CM, Warshawsky H: Morphologic and radioautographic studies of bone formation in relation to titanium implants using the rat tibia as a model. J Oral Maxillofac Impl 1995;10:155-165.
8. Schieran G, Bassi F, Gassino G, Mareschi K, Bellone G, Preti G: Cytokine production and bone remodeling in patients wearing overdentures on oral implants. J Dent Res 2000;79:1675-1682.
9. Spyrou P, Papaioannou S, Hampson G: Cytokine release by osteoblast like cells cultured on implant discs of varying alloy compositions. Clin Oral Impl Res 2002;3:623-630.
10. Koka S, Vance JB, Maze G: Bone growth factors: Potential for use as an Osseointegration enhancement technique. Periodont Abstr 1995;43:97-104.
11. Ogawa T, Nishimura I: Different bone integration profiles of turned and acid-etched implants associated with modulated expression of extracellular matrix genes. Int J Oral Maxillofac Impl 2003;18:200-210.
12. 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 2002;11:241-247.
13. Shim CH, Jee YJ, Song HC: Expression of osseointegration-related genes around titanium implant: BMP2, BMP4. J Kor Maxillofac Plast Reconstr Surg 2005;27:307-314.
14. Lee IW, Song HC, Jee YJ: Expression of TGF- β and IGF-I during osseointegration of titanium implant. J Kor Maxillofac Plast Reconstr Surg 2005;27:123-130.
15. Jee YJ, Kim SH: Expression of during Osseointegration of Titanium Implant ; TGF- β , IGF-I, BMP2, BMP4. J Kor Dent Assoc 2008;46:494-504.
16. Cooper LF: Biologic determinants of bone formation for osseointegration: clues for future clinical improvements. J Prosthet Dent 1998;80:439-449.
17. Buser D, Brogini N, Wieland M, Schenk RK, Denzer AJ, Cochran DL et al: Enhanced bone apposition to a chemically

- modified SLA titanium surface. *J Dent Res* 2004;83:529-533.
18. Berglundh T, Abrahamsson I, Albohy JP, Lindhe J: Bone healing at implants with a fluoride-modified surface: an experimental study in dogs. *Clin Oral Impl Res* 2007;18:147-152.
 19. Tresguerres IF, Clemente C, Donado M, Gomez-Pellico L, Blanco L, Alobera MA et al: Local administration of growth hormone enhances periimplant bone reation in an osteoporotic rabbit model. *Clin Oral Impl Res* 2002;13:631-636.
 20. Clokie CM, Bell RC: Recombinant human transforming growth factor and its effects on osseointegration. *J Craniofac Surg* 2003;14:268-277.
 21. Stenport VF, Johansson CB, Sawase T, Yamasaki Y, Oida S: FGF-4 and implants: a pilot study in rabbit bone. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:363-368.
 22. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J et al: Platelet-rich fibrin(PRF): a second-generation platelet concetrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2006;101:e37-44.
 23. Davies JE: Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003;67:932-49.
 24. Schneider GB, Perinpanayagam H, Clegg M, Clegg M, Zaharias R, Seabold D et al: Implant surface roughness affects osteoblast gene expression. *J Dent Res* 2003;82:372-376.
 25. Schierano G, Canuto RA, Navone R, Peirone B, Martinasso G, Pagano M et al: Biological factors involved in the osseointegration of oral titanium implants with different surfaces: A pilot study in minipigs. *J Periodontol* 2005;76:1710-1720.
 26. Takebe J, Champagne CM, Offenbacher S, Ishibashi K, Cooper LF: Titanium surface topography alters cell shape and modulates bone morphogenetic protein 2 expression in the J774A.1 macrophage cell line. *J Biomed Mater Res* 2003; 64:207-216.
 27. Cameron ML, Richard CB: Recombinant human transforming growth factor and its effects on osseointegration. *J Craniofac Surg* 2003;14 :268-277.
 28. Centrella M, McCarthy TL, Canalis E: Receptors for insulin-like growth factors-I and -II osteoblast -enriched cultures from fetal rat bone. *Endocrinology* 1990;126:39-44.
 29. Buzza EP, Shibli JA, Barbeiro RH, Barbosa JR: Effects of electromagnetic field on bone healing around commercially pure titanium surface: histologic and mechanical study in rabbits. *Implant Dent* 2003;12:182-187.
 30. Masaki G, Schneider GB, Zaharias R, Seabold D, Stanford C: Effect of implant surface microtopography on osteoblast gene expression. *Clin Oral Impl Res* 2005;16:650-656.
 31. Ku CH, Browne M, Gregson PJ, Corbeil J, Pioletti DP: Large-scale gene expression analysis of osteoblasts cultured on three different Ti-6Al-4V surface treatments. *Biomaterials* 2002;23:4193-4202.
 32. Kim Y, Jang JH, Ku Y, Koak JY, Chang IT, Kim HE et al: Microarray-based expression analysis of human osteoblast-like cell response to anodized titanium surface. *Biotechnol Lett* 2004;26: 399-402.
 33. Ogawa T, Nishimura I: Genes differentially expressed in titanium implant healing. *J Dent Res* 2006;85:566-570.
 34. Albrektsson T, Wennerberg A: The impact of oral implant- Past and Future, 1966-2042. *J Can Dent Assoc* 2005;71:327-327d.