

성견에 식립된 sandblasted and large-grit and acid-etched 임플란트에서 N-acetyl cysteine (NAC)의 탑재가 주위 골형성에 미치는 영향에 대한 선행연구

서재민^{1,2} · 김인주¹ · 배민수¹ · 이정진^{1,2} · 안승근^{1,2*}

¹전북대학교 치의학전문대학원 치과보철학교실, ²전북대학교병원 의생명연구원

The Effect of N-acetyl cysteine (NAC) loading on the bone formation surrounding sandblasted and large-grit and acid-etched implants in the dog: A pilot study

Jae-Min Seo^{1,2}, In-Ju Kim¹, Min-Soo Bae¹, Jung-Jin Lee^{1,2}, Seung-Geun Ahn^{1,2*}

¹Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Jeonbuk National University, Jeonju, Republic of Korea

²Research Institute of Clinical Medicine of Jeonbuk National University-Biomedical Research Institute of Jeonbuk National University Hospital, Jeonju, Republic of Korea

Purpose: The aim of the present study was to investigate the effects of N-acetyl cysteine (NAC) loading on the bone formation surrounding sandblasted, large-grit and acid-etched (SLA) implants. **Materials and methods:** Implantation of NAC loaded SLA implants (NSI group) and SLA implants (SI group) was performed bilaterally in the mandible of 4 adult beagle dogs (each group, n = 8). The animals were sacrificed after a healing period of 3 and 6 weeks, respectively (n = 2 animal each). Dissected blocks were processed for histomorphometrical analysis. Bone to implant contact percentage (BIC%) and bone volume (BV%) were assessed histomorphometrically. **Results:** BIC% of NAC loaded SLA implants were about 50% higher than that of SLA implants at 3 weeks of bone healing, but not significantly (51.79 vs 35.43%; $P=185$). BV% of NAC loaded SLA implants were significantly higher than that of SLA implants at 3 weeks of bone healing (45.09 vs 37.57 %; $P=044$). At 6 weeks of bone healing, BIC% and BV% of two experimental groups were similar ($P>.05$). **Conclusion:** Within the limits of the present study, NAC loading have a positive effects on the early bone formation surrounding SLA implants. So, it might be concluded that NAC loading enhance the osseointegration and shorten the healing time after implantation of the SLA implants. (*J Korean Acad Prosthodont 2020;58:77-85*)

Keywords: Implant; N-acetyl cysteine (NAC); Sandblasted and large-grit and acid-etched

서론

완전 혹은 부분 무치악 환자에 대한 임플란트 치료는 지난 40년 동안 성공적인 결과를 낳아 예지성 있는 치과치료로 받아들여진다.¹⁻⁴ 이것은 연조직 개재 없이 골조직이 임플란트 표면과 직접 구조적, 기능적으로 연결되는 골유착이라는 생물학적 개념에 근거한다.⁵⁻⁷ 악골 내에서의 임플란트 안정은 임플란트 치료

성공에 필수적인 요소이다. 이는 임플란트 식립 후 나타나는 초기 고정과 골유착 후 나타나는 이차 고정에 의해 얻어진다.⁸ 우수한 임플란트 안정성을 얻기 위해서는 임플란트의 재료 및 디자인과 표면 거칠기, 환자 변수 등을 고려해야 한다.⁹ 초기 고정은 환자의 골질, 수술 방법, 임플란트 매식체의 디자인 등에 의해 영향을 받는다. 반면 이차 고정은 임플란트와 새로 형성된 골과의 계면에서 나타나는 골유착에 의해 얻어지며 임플란트 표면은 골유

*Corresponding Author: Seung-Geun Ahn

Department of Prosthodontics, School of Dentistry and Institute of Oral Bio-Science, Jeonbuk National University, 567, Baekje-daero, Deokjin-gu, Jeonju, Republic of Korea
+82 (0)63 250 2032; e-mail, sgahn@jbn.u.ac.kr

Article history: Received September 11, 2019 / Last Revision December 24, 2019 / Accepted January 13, 2020

©2020 The Korean Academy of Prosthodontics

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

※This paper was supported by Fund of Biomedical Research Institute, Jeonbuk National University Hospital.

착에 관여하는 중요한 요소이다.¹⁰ 최근에는 이 골유착 기간을 줄여 이차 고정 시기를 앞당기고 임플란트 치료 기간을 단축시키기 위해 새로운 임플란트 표면처리 방법을 개발하고 있다.¹¹ 오래 전부터 ‘거친(rough)’ 임플란트 표면은 기계 절삭(machined)되었거나 ‘부드러운(smooth)’ 임플란트 표면보다 골유착 기간을 단축시키는 효과가 있다.^{12,13} 또한 거친 임플란트 표면은 더 많은 골유착과 골-임플란트 접촉(bone to implant contact; BIC)을 보여 생체역학적 고정에 유리하다고 하였다.¹⁴⁻²² 거친 임플란트 표면을 만드는 다양한 방법 중에 sandblasted, large-grit and acid-etched (SLA) 표면처리 방법은 예지성 높은 결과를 보여주는 검증된 표면처리방법이다.^{12,23-25} SLA 표면처리는 이산화 티타늄(TiO₂)이나 알루미늄(Al₂O₃)을 분사하는 방법과 산 부식하는 방법의 장점을 조합하여 거친 표면과 미세 소와를 모두 얻는 방법이다.²⁶ 많은 문헌에서 SLA 표면처리는 티타늄 플라즈마 스프레이(titanium plasma spray; TPS)보다 더 많은 골-임플란트 접촉과 더 작은 골 흡수를 보이는 조직학적 특성과 더 강한 생역학적 결과를 보였다.^{14,24,27-30} 임상적으로도 SLA 표면을 가진 임플란트는 많은 장점을 가지며 기존의 일반적인 12주의 골유착 치유기간을 6주까지 줄였다.^{23,31} 최근에는 화학적으로 수정된 SLA 표면이 소개되면서 임플란트 표면의 습윤성이 획기적으로 증가되고 골유착 치유기간을 3주까지 줄였다는 보고도 있다.^{32,33}

이렇듯 안정적인 2차 고정을 빠른 시간 내에 도달하려는 임플란트 표면처리의 개발이 지속적으로 이루어지고 있음에도 불구하고 임플란트 식립은 외과적인 수술이 반드시 필요하다. 아무리 임플란트 표면의 생체적합성이 우수하더라도 환자에게는 일정 부분 침습적일 수밖에 없다. 임플란트 식립 시에 발생하는 골 삭제나 골 절제 등의 외과적 스트레스나 임플란트 표면에 잔존되어 있는 화학 성분은 식립 부위의 세포 내 반응 산소 종(reactive oxygen species; ROS)을 쉽게 증가시킨다. 증가된 ROS는 골 무기질 밀도를 감소시켜 골 흡수를 유발한다.³⁴ 왜냐하면 ROS가 골모세포의 분화나 알칼리성 인산가수 분해효소(alkaline phosphatase; ALP) 활성, 기질의 무기질화(matrix mineralization)와 같은 골모세포의 기능은 저해시키고 파골세포의 분화는 촉진시켜 만성 염증을 유발하거나 골재생을 감소시키기 때문이다.³⁵⁻³⁷ 따라서 임플란트 표면에 항산화제와 같은 약리적 성분을 처리한다면 주위 골조직의 치유 및 재생을 증대시킬 수 있을 것이다.

N-acetyl cysteine (NAC)은 cysteine의 유사체이며 주로 아세트아미노펜 과다 복용에 의한 간 독성이나 호흡 장애에 사용되는 약물이다.³⁸ 항산화물질로서 NAC는 세포의 글루타티온 산화환원 사이클(glutathione redox cycle)을 촉진시켜 세포 글루타티온 수준을 높인데, 이것이 외과적 스트레스나 생체재료의 화학적 성분에 의해 증가된 ROS를 감소시키는 역할을 한다.^{39,40} 이미 NAC를 탑재한 순수한 티타늄이 ROS를 감소시킬 수 있다는 *in vitro* 연구 결과가 있다.⁴¹ 따라서 NAC를 ROS 스캐빈저(scavenger)로서 임플란트 표면에 직접 탑재하면 임플란트 주위 골 재생 및 치유에 긍정적인 영향을 기대할 수 있을 것이라고 사

료된다. 최근, NAC를 탑재한 TiO₂ 나노튜브 임플란트의 *in vitro* 실험과 쥐를 이용한 *in vivo* 실험을 진행한 Lee 등⁴²의 연구에 의하면 NAC는 TiO₂ 나노튜브 임플란트의 생체적합성과 골유착을 증가시키는 효과가 있다고 하였다. 그러나 이 연구는 조직형태학적 관찰을 정량화하지 않았고 소형 동물 모델 내에서 시행한 *in vivo* 실험이라는 한계를 가지고 있다. 보다 임상적으로 널리 사용하고 있는 임플란트보다는 기계절삭 임플란트와 TiO₂ 나노튜브 임플란트에만 NAC를 적용했다는 한계도 있다. 현재 SLA를 비롯한 다양한 표면을 가진 임플란트에 NAC를 적용하고 대형 동물 모델을 이용하여 조직형태학적 관찰을 진행한 연구는 없는 상태이다. 따라서 본 연구는 NAC를 탑재한 SLA 임플란트를 성체 비글 견에 식립한 후, NAC가 SLA 임플란트 주위의 골형성에 미치는 영향을 조직형태학적 분석으로 알아보려고 한다.

재료 및 방법

1. 실험군의 구성

임플란트 표면처리 방법에 따라 2개의 실험군으로 구성하였다. SI 군은 SLA 임플란트로, NSI 군은 NAC를 탑재한 SLA 임플란트로 설정하였다 (Table 1).

2. 임플란트 매식체의 준비

총 16개의 직경 3.6 mm, 길이 7 mm 나선형태의 SLA 표면을 가진 임플란트 매식체(Superline, Dentium, Seoul, Korea)를 준비하였다. 이 중 8개의 임플란트 매식체는 10 mM의 NAC (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액에 담가 배양기 안에서 24시간 동안 진공 건조하여 임플란트 표면으로의 NAC 탑재를 시행하였다. 모든 임플란트 표면은 불활성 기체인 질소 가스로 추가 건조하고 에틸렌옥사이드 가스로 멸균하였다.

3. 성체 비글 견의 발치

평균 몸무게 15.5 kg의 전신적으로 건강하고 모든 영구치 맹출이 완료되었으며 치주질환이 없는 총 4마리의 성체 비글 견을 이용하였다. Atropine sulfate 0.02 mg/kg, Cefazolin 25 mg/kg, Tramadol 2 mg/kg을 술 전 1회 경구투약하였다. Propofol을 이

Table 1. Experimental groups in this study

Group	Surface treatment	Healing period (weeks)	N
SI	Sandblasted, large-grit, acid-etched	3	4
		6	4
NSI	N-acetyl cysteine loaded sandblasted, large-grit, acid-etched	3	4
		6	4

용하여 2 mg/kg 용량으로 정맥 주사하여 마취 유도하였다. 멸균된 수술방에서 2% Isoflurane을 이용한 전신마취 하에 수술을 진행하였으며 지속적으로 심전도를 감시하였다. 수술 부위의 협측 및 설측 점막에 1:10만 에피네프린을 포함하는 2% 리도카인으로 부가적인 국소마취를 시행하였다. 양측 하악 제 3, 4 소구치와 제 1대구치 주위의 전층 판막을 거상하고 고속 핸드피스를 이용하여 풍부한 주수 하에 치아를 분할하였다. 발치기자와 발치검자를 이용하여 양측 하악 제 3, 4 소구치와 제 1대구치를 최소 침습적으로 발거하였으며 판막을 재위치시키고 단순단속 봉합하였다. 술 후, Cefazolin 25 mg/kg과 Tramadol 2 mg/kg을 하루 3회 7일간 경구 투여하였다.

4. 임플란트 식립

발치 5개월 후에 발치 과정과 동일한 술 전, 후 프로토콜을 통하여 임플란트를 식립하였다. 하악 양측 무치악부위에 치조제정 절개를 가한 후 전층 판막을 거상하고 임플란트가 식립될 부위의 치조골을 노출시켰다. 풍부한 주수 하에 최소 침습적인 방법으로 임플란트 사이가 최소 5 mm 이상 떨어지도록 임플란트를 식립하였다. 임플란트 협, 설측으로 최소 1.5 mm 이상의 피질골이 잔존하도록 치조골의 정중앙에 매식하였으며 수술 외상으로 인하여 불가피하게 발생하는 술 후 수직적 치조골 소실을 예상하여 치조정 0.5 mm 하방에 임플란트 플랫폼이 정확하게 위치되도록 약간 깊게 식립하였다 (Fig. 1). 비글 견의 하악 편측 무치악부위는 각 실험군의 임플란트를 골고루 1개씩, 총 2개의 매식체가 식립되도록 하였다. 4마리의 비글 견에 좌, 우측 하악에 각군의 임플란트가 1개씩 식립됨으로써 한 군당 8개의 표본크기를 가지게 되었다. 각 군 임플란트의 전, 후방적 식립 위치는 무작위로 선정하였다. 식립이 완료된 후, 피개 스크류를 연결하고 판막을 재위치시키고 단순단속 봉합하였다. 술 후, Cefazolin 25 mg/

kg과 Tramadol 2 mg/kg을 하루 3회 7일간 경구 투여하였다.

5. 조직 시편의 제작 및 조직형태학적 검사

임플란트 식립 3주 후에 2마리의 비글 견을 희생하여 조직 표본(각 실험군당 n = 4)을 채취하고 임플란트 식립 6주 후에 나머지 2마리의 비글 견을 희생하여 조직 표본(각 실험군당 n = 4)을 채취하였다. 임플란트와 주위 골조직을 함께 채취하여 10% neutral buffered formalin (Accustain Sigma-Aldrich Inc., Steinheim, Germany)에 5일간 담가 고정하였다. 이후 모든 표본은 최소 6시간 이상 흐르는 물에 세척하고 알코올의 농도를 높여가며 탈수를 시행하였다. 석회질을 제거하지 않은 절편을 만들기 위해 메타크릴산메틸에 포매하였다. 절단 및 연마 시스템(Exakt 310 CP series, Exakt Apparatebau, Norderstedt, Germany)을 이용하여 임플란트의 장축을 따라 매식체의 중앙이 포함되도록 20-50 μm 두께의 석회질을 제거하지 않은 절편을 제작하였다. 모든 절편은 Goldner Trichrome 염색하였으며 광학 현미경(Leica DM2700M, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)과 영상분석 프로그램(LAS software V 4.3, Leica Microsystems, Heerbrugg, Switzerland)을 이용하여 조직형태학적 검사를 시행하였다($\times 12.5$, 40, 100 배율). 현미경이 장착된 디지털 카메라(Leica DFC295, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)로 영상을 획득하였다 (Fig. 2). 광학현미경의 접안렌즈를 통한 100배 확대 영상에서 골 영역과 신생골 양을 직접 측정하였다 (Fig. 3). 치근단 부위의 cutting edge 부위를 제외하고 왼쪽과 오른쪽의 모든 나사산의 골-임플란트 접촉률(bone to implant contact percentage; BIC%)을 측정하고 평균을 산출하였다. 마찬가지로 치근단 부위의 cutting edge 부위를 제외하고 모든 나사산 내에 존재하는 광화된 골조직의 양을 측정하여 골면적 비율(percentage of bone volume; BV%)을 계산하고 평균을 산출하였다.

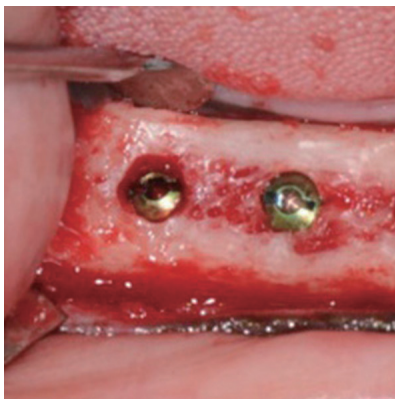


Fig. 1. Clinical photograph illustrating implant site after each implant of experimental groups insertion.

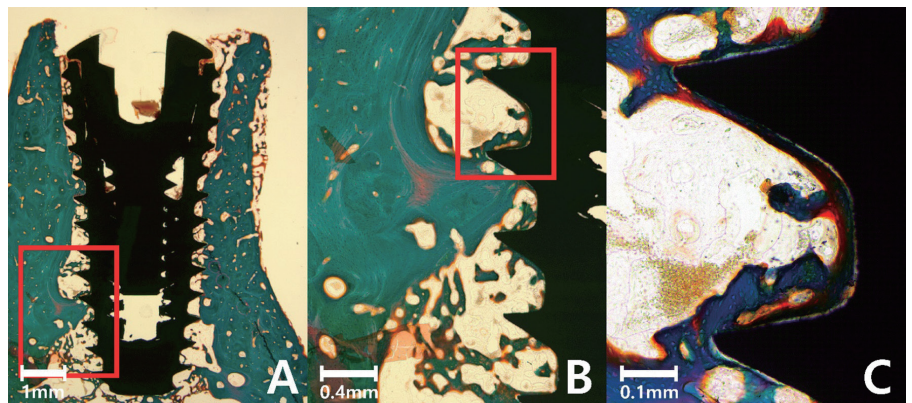


Fig. 2. Captured image of NAC loaded SLA implant sample at week 3 for histomorphometric analysis. (A) original magnification $\times 12.5$, (B) original magnification $\times 40$ (image demonstrating high magnification of box in Fig. 2A), (C) original magnification $\times 100$ (image demonstrating high magnification of box in Fig. 2B).

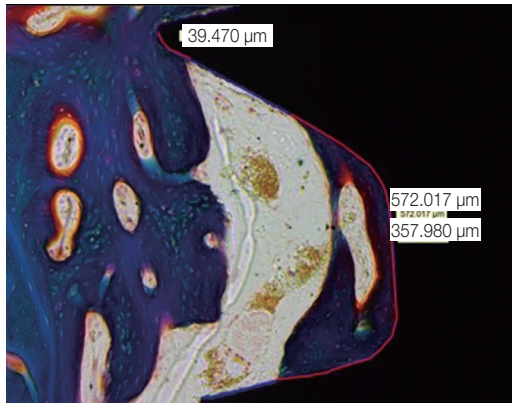


Fig. 3. Drawing on captured image for bone to implant contact (BIC)% analysis (original magnification × 100).

6. 통계분석

각 실험군의 평균과 표준편차를 산출하고 통계분석을 하기 위해 SPSS ver. 18.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. Kolmogorov-Smirnov 및 Shapiro-Wilk의 정규성 검정 결과 모든 실험군은 정규분포를 하고 있었다. NAC탑재 여부에 따른 각 실험군간 골-임플란트 접촉률과 골면적 비율의 유의성을 알아보기 위해 독립표본 t검정을 이용한 통계분석을 시행하였다 ($\alpha = .05$).

Table 2. The bone to implant contact percentage (BIC%) of the experimental groups expressed as mean (SD)

Group	Mean (SD)	
	Week 3 (n = 4)	Week 6 (n = 4)
SI	35.43 (11.40)	50.33 (13.84)
NSI	51.79 (18.67)	52.90 (11.77)

Group SI: SLA implant, group NSI: NAC-loaded implant

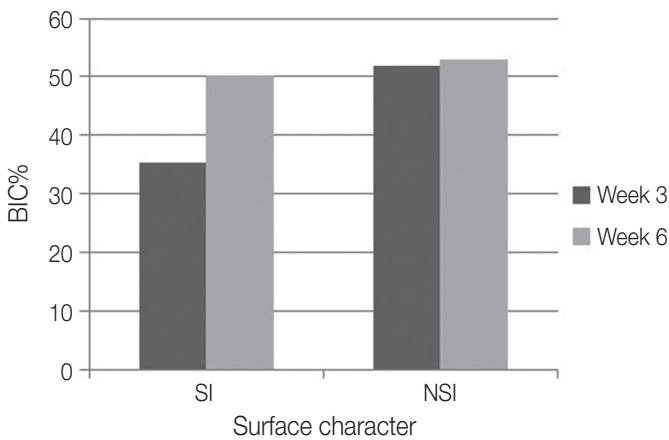


Fig. 4. Bone to implant contact percentage (BIC%) of SLA implant (SI), NAC-loaded SLA implant (NSI). There was no significant difference ($P > .05$).

결과

광학현미경하에서 조직학적 검사 결과, 모든 시편은 연조직 개재 없이 임플란트 나사선 주위에 골형성이 되어 있음이 관찰되었다. 뿐만 아니라 임플란트 매식체 주위에는 어떠한 염증성 징후도 관찰되지 않았다. NAC탑재 여부에 따른 각 실험군의 골-임플란트 접촉률(BIC%)의 평균 및 표준편차는 Table 2과 Fig. 4에 나타내었다. 3주차에서는 NAC를 탑재한 SLA 임플란트(NSI 군)가 NAC를 탑재하지 않은 SLA 임플란트(SI 군)보다 높은 골-임플란트 접촉률을 보였다 ($51.79 \pm 18.67\%$ vs $35.43 \pm 11.40\%$). NAC를 탑재한 SLA 임플란트(NSI 군)가 NAC를 탑재하지 않은 SLA 임플란트(SI 군)보다 1.5배 가량 높은 골-임플란트 접촉률을 보였으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다 ($P > .05$). 6주차에는 NAC를 탑재한 SLA 임플란트(NSI 군)와 NAC를 탑재하지 않은 SLA 임플란트(SI 군)가 비슷한 골-임플란트 접촉률을 보였다 ($52.90 \pm 11.77\%$ vs $50.33 \pm 13.84\%$) ($P > .05$).

NAC 탑재 여부에 따른 각 실험군의 골면적 비율(BV%)의 평균 및 표준편차는 Table 3과 Fig. 5에 나타내었다. 3주차에서는 NAC를 탑재한 SLA 임플란트(NSI 군)가 NAC를 탑재하지 않은 SLA 임플란트(SI 군)보다 통계적으로 높은 골면적 비율을 보였다 ($45.09 \pm 1.26\%$ vs $37.57 \pm 5.78\%$) ($P < .05$). 6주차에는 NAC를 탑재한 SLA 임플란트(NSI 군)와 NAC를 탑재하지 않

Table 3. The bone volume percentage (BV%) of the experimental groups expressed as mean (SD)

Group	Mean (SD)	
	Week 3 (n = 4)	Week 6 (n = 4)
SI	37.57 (5.78)	45.74 (12.57)
NSI	45.09 (1.26)	47.35 (9.78)

Group SI: SLA implant, group NSI: NAC-loaded implant

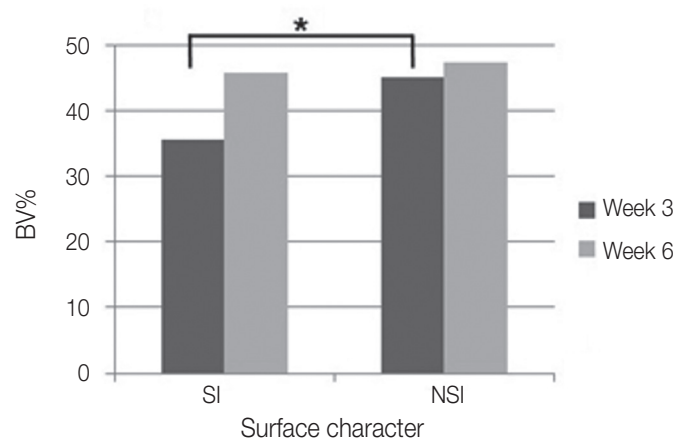


Fig. 5. Bone volume percentage (BV%) of SLA implant (SI), NAC-loaded SLA implant (NSI). *A significant difference was determined ($P < .05$).

은 SLA 임플란트(SI 군)가 비슷한 골면적비율을 보였다($47.35 \pm 9.78\%$ vs $45.74 \pm 12.57\%$)($P > .05$).

고찰

임플란트 매식체를 악골에 식립하면 임플란트 주위 조직은 일련의 3가지 명확한 골치유단계인 골전도, 신생골 형성, 골개조 과정을 거친다.^{43,44} 골전도 단계는 임플란트 식립 직후 임플란트와 골 사이에 혈병이 차고 이로 인해 발생한 섬유소 그물망(fibrin network)이 골모세포 등의 골원성 세포의 부착을 증진시켜 임플란트 표면에 직접골화를 일으키는 과정이다. 신생골 형성 단계는 골전도 단계에서 생성된 약한 무층골이 층판골로 치환되는 과정이다. 최근 치과임플란트학에서는 이런 골 치유단계 중 골 전도와 신생골 형성 능력을 향상시켜 임플란트의 골유착 기간을 단축시키고 하중 부담 시기를 앞당기는 것이 화두이다.

SLA 표면처리가 처음 소개된 이후, SLA 임플란트는 높은 표면에너지와 생체 적합성, 그리고 골세포에 친화적인(osteophilic) 표면지형을 가져 임상적으로 널리 사용되고 있다. SLA 표면처리는 250 - 500 μm 의 알루미나 입자로 분사한 후, 염산과 황산의 혼합용액(HCl/H₂SO₄ solution)에 담가 수 분간 부식시키는 방법이다. 이 방법으로 생성된 표면의 거칠기(Ra)는 대략 1.5 μm 이다.²⁶ Wennerberg 등⁴⁵에 의하면 표면 거칠기가 1.4 μm 를 보인 임플란트 군이 0.7 - 1.2 μm 의 상대적으로 부드러운 표면을 가지거나 2.2 μm 의 더 거친 표면을 가진 임플란트보다 더 많은 골-임플란트 접촉을 보인다고 보고하였다. 이러한 SLA 표면의 특징적인 거칠기와 미세 소와는 표면적을 늘리고 섬유소 골격과 골원성 세포의 유착을 증진시키는 효과가 있다.⁴⁶⁻⁴⁹ Perrin 등⁵⁰도 SLA 표면의 골친화적 특성은 표면의 성분보다는 지형학적(topographic) 특성에서 기인한다고 하였다. SLA 임플란트는 이런 장점을 바탕으로 하중부담시기를 6주까지 앞당기고 임상적으로 널리 사용하게 되었다.²³⁻²⁵ 따라서 SLA 임플란트가 여러 가지 임플란트 종류 중 가장 골유착을 앞당길 수 있는 표면 특성을 가졌으며 상업적으로 널리 사용되고 있고 적당한 표면거칠기(Ra)를 가져 NAC를 탑재하기 용이하다고 판단하여 본 연구의 주요한 실험재료로 사용하였다. Lee 등⁴²의 연구에 의하면 순수한 티타늄 임플란트와 TiO₂ 나노튜브 임플란트에 NAC를 탑재한 후 용출 실험을 진행한 결과, TiO₂ 나노튜브 임플란트에서는 5일 쯤까 지, 순수한 티타늄 임플란트에서도 2일 쯤까 지 NAC가 용출되었다고 보고하였다. 또한 NAC가 탑재된 순수 티타늄 임플란트와 TiO₂ 나노튜브 임플란트 모두에서 NAC가 탑재되지 않은 임플란트와 비교하여 표면 습윤성 및 골모세포의 생존율이 확연하게 증가되었다. 또한, 마이크로 컴퓨터단층촬영 검사 결과, 임플란트 식립 4주차의 NAC를 탑재한 TiO₂ 나노튜브 임플란트에서 확연하게 높은 무기질 침착과 골형성을 보였다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 위와 같은 선행들의 연구결과를 바탕으로 성체 비글 견에 식립된 SLA 임플란트에서 NAC가 초기 골형성에 미치는 영향을 알아보기 위해 *in vivo* 실험을 진행하였다.

두 종류의 SLA 임플란트의 주변 골 형성에 관한 조직형태학적 연구를 성견에서 시행한 Lai 등¹⁰의 연구를 보면 2주, 4주, 8주 후에 각각 조직표본을 채취하였는데, 2주와 4주 후에는 BIC%에서 유의한 차이를 보였으나, 8주 후에는 유의한 차이를 보이지 않았다. 이에 비해 본 연구는 SLA 임플란트에서 NAC가 초기 골형성에 미치는 영향을 알아보는 것이 목적이었기 때문에 조금 더 빠른 시기인 3주와 6주로 조직표본 채취시기를 정하였다.

임플란트 식립 3주차의 경우, NAC를 탑재한 SLA 임플란트(NSI군)가 NAC를 탑재하지 않은 SLA 임플란트(NI 군)보다 약 1.5배 높은 골-임플란트 접촉률을 보였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 4)($P > .05$). 결과 값의 큰 차이에도 불구하고 3주차 골-임플란트 접촉률에서 통계적 유의성이 없는 이유는 적은 표본크기($n = 4$)내에서 평균의 표준편차가 크게 도출되었기 때문이다. Shalabi 등⁵¹은 동일한 실험개체 내에서도 악골 내의 임플란트 매식체의 위치에 따라 피질골과 해면골 비율이 다르기 때문에 임플란트 주위 골반응이 다양한 값으로 나타난다고 보고하였다. 본 연구에서도 실험군 간의 동등한 조건을 부여하기 위해 한 실험군 내의 4개의 임플란트를 다른 비글 개체의 다양한 악골 위치에 골고루 식립하였다. 이는 분명 실험군 간의 공정한 비교에 기여했을 것이라 사료되나 동일 군내 표본이 악골의 다양한 위치에 분산 식립됨으로써 결과값의 표준편차가 커지는 결과를 가져왔을 것으로 사료된다. 그럼에도 불구하고 3주차 골면적 비율에서는 NAC를 탑재한 SLA 임플란트(NSI 군)가 NAC를 탑재하지 않은 SLA 임플란트(SI 군)보다 통계적으로 유의성 있게 높은 결과 값을 보였다(Fig. 5)($P < .05$). 이는 NAC의 탑재가 SLA 임플란트의 초기 골형성에 긍정적인 영향을 미친다는 것을 의미한다. 6주차의 경우 골-임플란트 접촉률과 골면적 비율 모두에서 NAC를 탑재한 SLA 임플란트(NSI 군)가 가장 높은 결과를 보였으나 NAC 탑재에 의한 차이는 거의 없었다(Fig. 4, Fig. 5)($P > .05$). 비교적 초기 치유시기라고 할 수 있는 3주차의 NAC를 탑재한 SLA 임플란트는 후기 치유시기라 할 수 있는 6주차의 NAC를 탑재하지 않은 SLA 임플란트와 비슷한 골-임플란트 접촉률과 골면적 비율을 보였다. 이는 NAC의 탑재가 임플란트의 골유착기간을 줄일 수 있는 약리학적 표면처리방법 중의 하나라는 것을 뒷받침한다.

여러 연구에서 티타늄 표면에 적용된 NAC는 골전도와 골유착 능력을 향상시킬 수 있는 생물학적 능력이 있다고 하였다.^{41,52,53} 또한 NAC는 TNF- α , IL-1 β 와 같은 염증 매개 물질 및 반응 산소 종과 RANKL를 감소시켰으며 항산화 물질인 Cu/Zn SOD, Mn SOD, heme oxygenase-1(HO-1)과 골 형성 단백질인 BMP-2, BMP-7, SPARC 발현을 증가시켰다.⁴² RANKL은 산화스트레스(oxidative stress)에 의해 발현이 촉진되는 특성을 가지며 파골세포의 분화를 촉진시켜 염증반응과 골 흡수를 유발시키는 물질이다.^{54,55} 반대로 SPARC는 무기질화를 조절하는 세포 외 기질 단백질이다.⁵⁶ 세포 내의 증가된 반응 산소 종은 세포 내 nuclear factor (erythroid-derived 2) like 2 (Nrf2) 활성을 매개로 HO-1을 활성화시키고, runt-related transcription factor-2

(Runx2)를 저해시켜 골모세포의 골형성 능력을 감소시키는 결과를 가져온다. Lee 등의 최근 연구에서는 골모세포 내 반응 산소 종이 Nr2를 활성화시키는 과정을 NAC가 차단 및 억제함으로써 이후에 발생하는 모든 변화를 정상수준으로 회복시킨다고 하였다.⁵⁷ 본 연구에서 NAC가 탑재된 SLA 임플란트가 초기 골 형성에서 우수한 결과를 보인 이유도 NAC가 항산화 작용을 동반하여 골모세포의 기능을 촉진시키고 파골세포의 기능과 염증반응은 감소시켰기 때문이라고 사료된다.

하지만, 본 연구는 몇 가지 한계점을 가진다. 첫째, 각 실험군 당 작은 표본 크기이며 둘째, NAC를 SLA 임플란트에만 적용했다는 것이다. NAC를 다른 표면 특성을 가지는 임플란트에 적용하는 추가적인 연구도 필요할 것이다. 또한 제한된 치유시점에서만 조직학적 관찰이 이루어졌다는 한계도 있다. 골유착이 비교적 빠르게 일어나는 SLA 임플란트의 표면 특성을 고려했을 때, 더 이른 다양한 시기(3일, 1주, 2주 등)에 조직학적 분석을 하였다면 NAC의 효과를 더욱 정확하게 평가할 수 있었을 것으로 사료된다.

결론

본 실험의 한계 내에서 NAC는 SLA 임플란트 주위의 초기 골형성에 긍정적인 영향을 미침으로써 유착기간을 단축시키고 하중 부담시기를 앞당기는 데에 기여할 수 있다.

ORCID

Jae-Min Seo <https://orcid.org/0000-0001-5095-4046>

In-Ju Kim <https://orcid.org/0000-0002-3235-3826>

Min-Soo Bae <https://orcid.org/0000-0002-6078-3639>

Jung-Jin Lee <https://orcid.org/0000-0002-7381-5230>

Seung-Geun Ahn <https://orcid.org/0000-0002-9105-931X>

References

- Buser D, Mericske-Stern R, Bernard JP, Behneke A, Behneke N, Hirt HP, Belser UC, Lang NP. Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part 1: 8-year life table analysis of a prospective multi-center study with 2359 implants. *Clin Oral Implants Res* 1997;8:161-72.
- Jemt T, Chai J, Harnett J, Heath MR, Hutton JE, Johns RB, McKenna S, McNamara DC, van Steenberghe D, Taylor R, Watson RM, Herrmann I. A 5-year prospective multicenter follow-up report on overdentures supported by osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996;11:291-8.
- Lambrecht JT, Filippi A, Künzel AR, Schiel HJ. Long-term evaluation of submerged and nonsubmerged ITI solid-screw titanium implants: a 10-year life table analysis of 468 implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:826-34.
- Lindquist LW1, Carlsson GE, Jemt T. A prospective 15-year follow-up study of mandibular fixed prostheses supported by osseointegrated implants. *Clinical results and marginal bone loss. Clin Oral Implants Res* 1996;7:329-36.
- Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1969;3:81-100.
- Albrektsson T. Direct bone anchorage of dental implants. *J Prosthet Dent* 1983;50:255-61.
- Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont* 1998;11:391-401.
- Raghavendra S, Wood MC, Taylor TD. Early wound healing around endosseous implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:425-31.
- Puleo DA, Nanci A. Understanding and controlling the bone-implant interface. *Biomaterials* 1999;20:2311-21.
- Lai HC, Zhuang LF, Zhang ZY, Wieland M, Liu X. Bone apposition around two different sandblasted, large-grit and acid-etched implant surfaces at sites with coronal circumferential defects: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2009;20:247-53.
- Binon PP. Implants and components: entering the new millennium. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000;15:76-94.
- Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 1991;25:889-902.
- Cooper LF. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. *J Prosthet Dent* 2000;84:522-34.
- Cochran DL, Schenk RK, Lussi A, Higginbottom FL, Buser D. Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res* 1998;40:1-11.
- Wennerberg A, Hallgren C, Johansson C, Danelli S. A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughnesses. *Clin Oral Implants Res* 1998;9:11-9.
- Akimoto K1, Becker W, Persson R, Baker DA, Rohrer MD, O'Neal RB. Evaluation of titanium implants placed into simulated extraction sockets: a study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:351-60.
- Botticelli D, Berglundh T, Buser D, Lindhe J. Appositional bone formation in marginal defects at implants. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:1-9.
- Botticelli D, Berglundh T, Buser D, Lindhe J. The jumping distance revisited: An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:35-42.
- Botticelli D, Berglundh T, Lindhe J. The influence of a bio-material on the closure of a marginal hard tissue defect adjacent to implants. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2004;15:285-92.

20. Botticelli D, Persson LG, Lindhe J, Berglundh T. Bone tissue formation adjacent to implants placed in fresh extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2006;17:351-8.
21. Jung UW, Kim CS, Choi SH, Cho KS, Inoue T, Kim CK. Healing of surgically created circumferential gap around non-submerged-type implants in dogs: a histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res* 2007;18:171-8.
22. Schwarz F, Ferrari D, Herten M, Mihatovic I, Wieland M, Sager M, Becker J. Effects of surface hydrophilicity and microtopography on early stages of soft and hard tissue integration at non-submerged titanium implants: an immunohistochemical study in dogs. *J Periodontol* 2007;78:2171-84.
23. Rocuzzo M, Bunino M, Prioglio F, Bianchi SD. Early loading of sandblasted and acid-etched (SLA) implants: a prospective split-mouth comparative study. *Clin Oral Implants Res* 2001;12:572-8.
24. 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;13:144-53.
25. Bornstein MM, Lussi A, Schmid B, Belser UC, Buser D. Early loading of nonsubmerged titanium implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: 3-year results of a prospective study in partially edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:659-66.
26. Szmukler-Moncler S1, Perrin D, Ahossi V, Magnin G, Bernard JP. Biological properties of acid etched titanium implants: effect of sandblasting on bone anchorage. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2004;68:149-59.
27. Trisi P, Marcato C, Todisco M. Bone-to-implant apposition with machined and MTX microtextured implant surfaces in human sinus grafts. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003;23:427-37.
28. Boyan BD, Batzer R, Kieswetter K, Liu Y, Cochran DL, Szmuckler-Moncler S, Dean DD, Schwartz Z. Titanium surface roughness alters responsiveness of MG63 osteoblast-like cells to 1 alpha,25-(OH)2D3. *J Biomed Mater Res* 1998;39:77-85.
29. Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Higginbottom FL, Buser D. Biologic width around titanium implants. A histometric analysis of the implanto-gingival junction around unloaded and loaded nonsubmerged implants in the canine mandible. *J Periodontol* 1997;68:186-98.
30. Kieswetter K, Schwartz Z, Hummert TW, Cochran DL, Simpson J, Dean DD, Boyan BD. 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.
31. Cochran DL. The scientific basis for and clinical experiences with Straumann implants including the ITI Dental Implant System: a consensus report. *Clin Oral Implants Res* 2000;11:33-58.
32. Buser D, Broggin N, Wieland M, Schenk RK, Denzer AJ, Cochran DL, Hoffmann B, Lussi A, Steinemann SG. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J Dent Res* 2004;83:529-33.
33. Zhao G, Schwartz Z, Wieland M, Rupp F, Geis-Gerstorfer J, Cochran DL, Boyan BD. High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure. *J Biomed Mater Res A* 2005;74:49-58.
34. Basu S, Michaëlsson K, Olofsson H, Johansson S, Melhus H. Association between oxidative stress and bone mineral density. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;288:275-9.
35. Lee DH, Lim BS, Lee YK, Yang HC. Effects of hydrogen peroxide (H2O2) on alkaline phosphatase activity and matrix mineralization of odontoblast and osteoblast cell lines. *Cell Biol Toxicol* 2006;22:39-46.
36. Mody N1, Parhami F, Sarafian TA, Demer LL. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. *Free Radic Biol Med* 2001;31:509-19.
37. Eckhardt A, Gerstmayr N, Hiller KA, Bolay C, Waha C, Spagnuolo G, Camargo C, Schmalz G, Schweikl H. TEGDMA-induced oxidative DNA damage and activation of ATM and MAP kinases. *Biomaterials* 2009;30:2006-14.
38. Ziment I. Acetylcysteine: a drug with an interesting past and a fascinating future. *Respiration* 1986;50:26-30.
39. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *J Dent Res* 2006;85:870-7.
40. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem* 1983;52:711-60.
41. Lee YH, Lee NH, Bhattarai G, Oh YT, Yu MK, Yoo ID, Jhee EC, Yi HK. Enhancement of osteoblast biocompatibility on titanium surface with Terrein treatment. *Cell Biochem Funct* 2010;28:678-85.
42. Lee YH, Bhattarai G, Park IS, Kim GR, Kim GE, Lee MH, Yi HK. Bone regeneration around N-acetyl cysteine-loaded nanotube titanium dental implant in rat mandible. *Biomaterials* 2013;34:10199-208.
43. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003;67:932-49.
44. Davies JE. Bone bonding at natural and biomaterial surfaces. *Biomaterials* 2007;28:5058-67.
45. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B. Design and surface characteristics of 13 commercially available oral implant systems. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1993;8:622-33.
46. Park JY, Davies JE. Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. *Clin Oral Implants Res* 2000;11:530-9.
47. 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* 2003;74:945-56.
48. Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont* 1998;11:391-401.

49. 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* 2002;22:535-45.
50. Perrin D, Szmukler-Moncler S, Echikou C, Pointaire P, Bernard JP. Bone response to alteration of surface topography and surface composition of sandblasted and acid etched (SLA) implants. *Clin Oral Implants Res* 2002;13:465-9.
51. Shalabi MM, Gortemaker A, Van't Hof MA, Jansen JA, Creugers NH. Implant surface roughness and bone healing: a systematic review. *J Dent Res* 2006;85:496-500.
52. Feng YF, Wang L, Zhang Y, Li X, Ma ZS, Zou JW, Lei W, Zhang ZY. Effect of reactive oxygen species overproduction on osteogenesis of porous titanium implant in the present of diabetes mellitus. *Biomaterials* 2013;34:2234-43.
53. Yamada M, Minamikawa H, Ueno T, Sakurai K, Ogawa T. N-acetyl cysteine improves affinity of beta-tricalcium phosphate granules for cultured osteoblast-like cells. *J Biomater Appl* 2012;27:27-36.
54. Mayahara K, Yamaguchi A, Takenouchi H, Kariya T, Taguchi H, Shimizu N. Osteoblasts stimulate osteoclastogenesis via RANKL expression more strongly than periodontal ligament cells do in response to PGE(2). *Arch Oral Biol* 2012;57:1377-84.
55. Tripuwabhut P, Mustafa M, Gjerde CG, Brudvik P, Mustafa K. Effect of compressive force on human osteoblast-like cells and bone remodelling: an in vitro study. *Arch Oral Biol* 2013;58:826-36.
56. Barker TH, Baneyx G, Cardó-Vila M, Workman GA, Weaver M, Menon PM, Dedhar S, Rempel SA, Arap W, Pasqualini R, Vogel V, Sage EH. SPARC regulates extracellular matrix organization through its modulation of integrin-linked kinase activity. *J Biol Chem* 2005;280:36483-93.
57. Lee DW, Kook SH, Ji H, Lee SA, Choi KC, Lee KY, Lee JC. N-acetyl cysteine inhibits H2O2-mediated reduction in the mineralization of MC3T3-E1 cells by down-regulating Nrf2/HO-1 pathway. *BMB Rep* 2015;48:636-41.

성견에 식립된 sandblasted and large-grit and acid-etched 임플란트에서 N-acetyl cysteine (NAC)의 탑재가 주위 골형성에 미치는 영향에 대한 선행연구

서재민^{1,2} · 김인주¹ · 배민수¹ · 이정진^{1,2} · 안승근^{1,2*}

¹전북대학교 치의학전문대학원 치과보철학교실, ²전북대학교병원 의생명연구원

목적: N-acetyl cysteine (NAC)를 탑재한 sandblasted and large-grit and acid-etched (SLA) 임플란트를 성견에 식립한 후, 조직형태학적 분석을 통하여 NAC가 SLA 임플란트 주위의 초기 골형성에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

재료 및 방법: NAC 탑재 여부에 따라 2개의 실험군으로 구성하였으며, SI 군은 NAC를 탑재하지 않은 SLA 임플란트로, NSI 군은 NAC를 탑재한 SLA 임플란트로 설정하였다. 4마리의 성체 비글 견에 두 실험군의 임플란트를 식립하고(각 군당 n = 8) 술 후 3주와 6주에 각각 2마리의 비글 견을 희생하여 식립된 임플란트 매식체와 주위 골 조직을 채취하였다. 조직 표본을 제작하고 조직형태학적 검사를 통해 골-임플란트 접촉률 및 골면적비율을 계산하였다. NAC 탑재 여부에 따른 각 실험군간 골-임플란트 접촉률과 골면적비율의 유의성을 알아보기 위해 독립표본 t검정을 이용한 통계분석을 시행하였다($\alpha = .05$).

결과: 3주차의 경우 NAC를 탑재한 SLA 임플란트가 일반 SLA 임플란트보다 약 1.5배 높은 골-임플란트 접촉률을 보였으나 통계적 유의성은 없었다 (51.79 vs 35.43%; $P = .185$). 골면적 비율에서는 NAC를 탑재한 SLA 임플란트가 일반 SLA 임플란트보다 통계적으로 유의성 있게 높은 결과 값을 보였다(45.09 vs 37.57 %; $P = .044$). 6주차의 경우 골-임플란트 접촉률과 골면적 비율 모두에서 NAC를 탑재한 SLA 임플란트와 일반 SLA 임플란트가 비슷한 결과 값을 보였다($P > .05$).

결론: 본 실험의 한계 내에서 NAC는 SLA 임플란트 주위의 초기 골형성에 긍정적인 영향을 미침으로써 임플란트의 골유착기간을 단축시키고 하중 부담시기를 앞당기는 데에 기여할 것이라고 사료된다. (*대한치과보철학회지* 2020;58:77-85)

주요단어: 임플란트; N-acetyl cysteine (NAC); Sandblasted and large-grit and acid-etched

*교신저자: 안승근

54896 전북 전주시 덕진구 백제대로 567 전북대학교 치의학전문대학원 치과보철학교실
063 250 2032; e-mail, sgahn@jbnu.ac.kr

원고접수일: 2019년 9월 11일 / 원고최종수정일: 2019년 12월 25일 / 원고채택일: 2020년 1월 13일

© 2020 대한치과보철학회

© 이 글은 크리에이티브 커먼즈 코리아 저작자표시-비영리 4.0 대한민국 라이선스에 따라 이용할 수 있습니다.

※ 이 논문은 전북대학교병원 의생명연구원의 학술 연구비 지원에 의하여 연구되었음.