HA-coated Zirconia의 생물학적 활성도에 관한 연구

남석우[1] · 김해원[2] · 김현이[2] · 양승민[1,3] · 신승윤[1] · 이용무[1] · 정종평[1] · 한수부[1] · 최상묵[1] · 류인철[1]

[1]서울대학교 치과대학 치주과학교실
[2]서울대학교 공과대학 료공학부
[3]성균관대학교 의과대학 치과학교실

I. 서론

Hydroxyapatite(HA)는 화학적 구성과 결정체로서의 구조면에서 인간의 경조직과 유사성때문에 골 및 치아의 대체 물질로서 광범위하게 연구되고 있으며 훌륭한 생체적합성(biocompatiblity)이 입증되어있다[1-4]. 많은 동물실험을 이용한 조직학적 관찰을 통해 HA는 연조직 및 골과의 훌륭한 상호작용을 보이는 등 장기간에 걸친 생체적합성과 염증반응을 유발시키지 않음을 인정받았다[5, 6]. 또한 다공성(porous)의 HA는 골 내에 이식되었을 때 혈관증식을 도모해주는 비계(scafford)로서 작용, 새로운 골의 침착을 가능하게 해주는 좋은 골전도능력(osteoconducton)을 보여주어 골의 재생을 위해 성공적으로 이용되고 있다[7,8]. 다공성의 재료는 소공(pore) 내부로 조직이 증식할 수 있으므로 그렇지 않은(nonporous) 재료보다는 골의 재생에 더욱 유리하다. 조골세포(osteoblast)의 성장, 혈관의 증식(fibrovascular ingrowth) 및 골 형성을 위해서는 직경 100㎛ 이상의 소공을 가져야한다[5, 9].

하지만 다공형의 구조는 골형성을 촉진시키는 동시에 물질의 물리적 강도를 감소시킨다. HA는 본래 물리적인 강도가 취약하므로 HA로부터 만들어진 골대체 재료들은 주로 부하가 가해지지 않는 부위(non-load-bearing area)에 사용되고 있다[4,11]. 그러므로 생체활성면에서 우수한 재료인 HA를 인체의 다른 부위에 사용하려면 물리적인 면에서의 개선이 필수적으로 요구되고 있다.

생물학적인 요구조건과 물리적인 요구조건을 만족시키기 위해서 여러가지 방법들이 소개되고 있는데 HA와 강화물질(reinforcing phase)과의 혼합방법이 이를 위한 가장 유용한 방법 중 하나이다. 강화물질로서는 여러가지 종류의 ceramic oxides, metal dispersions이 다양한 형태로 사용된다[12-14]. 이들 가운데 zirconia(ZrO_2)는 HA와 혼합하였을 때 HA가 가지고 있는 고유한 생체적합성을 감소시키지 않으면서 높은 기계적 강도를 유지하는 것으로 알려져 있다[13-15]. zirconia의 표면에 biological glass를 coating하였을 때 훌륭한 생체적합성을 보여주었다는 보고가 있으며, zirconia의 표면에 HA를 coating하는 방법에 대한 여러 연구가 진행되고 있다[16,17].

본 연구에서는 물리적으로 강화된 HA-coated zirconia (ZrO_2) 내부에 세포를 접종하고 3차원적으로 배양함으로써 HA-coated zirconia의 생물학적 활성

* 이 연구는 1999년도 서울대학교 병원 임상공동연구비(01-1999-070-0) 지원으로 수행되었음
교신 저자: 류인철, 서울특별시 종로구 연건동 28 서울대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호: 110-768

Table 1. 실험시편의 분류 및 특징

실험군	재료	특징
HALL	HA	Low porosity, Large pores
HZLL	HA-coated Zirconia	Low porosity, Large pores
HZHL	HA-coated Zirconia	High porosity, Large pores
HZHS	HA-coated Zirconia	High porosity, Small pores

도를 알아보고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

1. 시편의 준비

HA 시편과 Zirconia(ZrO_2)에 HA를 도포한 시편은 9mm x 9mm x 2mm의 크기로 제작되었으며 Table 1에서 보이는 바와 같이 각기 다른 다공율(porosity)와 소공 크기(pore size)로 준비되었다. 다공성의 3차원적 구조를 지닌 시편들은 각각 70%, 90%의 다공율(porosity)과 300-500㎛와 500-700㎛의 소공 크기를 가지는 것으로 제작되었다. 다공성의 시편은 소공들끼리 연결되고 유합되는 구조를 가지며 쉽게 부숴지지 않을 정도의 경도 및 강도를 가지고 있었다. 또한 시편을 배양액내에 위치시켰을 때 쉽게 배양액을 흡수할 정도로 높은 친수성(hydrophilicity)을 보여주었다.

2. 세포 배양

24 well 세포배양접시에 시편을 넣고 MC3T3-E1 세포 suspension 20㎕를 각각 접종하여 각 농도를 10^5/block 이 되게 하였다. 대조군(control)으로는 시편을 넣지 않고 polystyrene dish에 배양된 세포를 사용했다. 시편에 세포가 부착되도록 incubator에 3시간 위치시킨 후, 추가로 1㎖의 배양액을 모든 well에 첨가했다. 95% air, 5% CO_2, 37 ℃인 환경을 유지해주고, 2-3일마다 mineralizing media를 교체해주었다.

3. 세포 부착 및 세포 증식의 평가

세포 증식의 평가를 위해 1일, 7일, 14일에서 측정을 시행하였다. 각각의 시점에서 시편을 HBSS (Gibco, USA)으로 세척하여 부착되지 않은 세포를 제거한 다음, 0.25% trypsin in 4mM EDTA 용액을 넣고 37℃에서 10분간 배양하여 부착된 세포를 시편으로부터 떼어내었다. Hemocytometer를 이용하여 세포수를 측정하였다.

4. Alkaline Phosphatase 활성도 평가

세포 증식의 측정을 위해 사용한 동일한 세포를 이용하여 1일, 7일, 14일째에 측정하였다. 세포를 Sonicator(Fisher, USA)로 초음파파절후 0.1M glycin-NaOH buffer, 15mM p-nitrophenol phosphate(p-NPP), 0.1% Triton X-100/saline, DDW을 첨가하여 37℃에서 반응시킨다 30분후 냉장된 0.1N NaOH를 가하여 반응을 중지시킨 후 Alkaline Phosphatase에 의해 분해되어 생성된 p-nitrophenol(p-NP)을 405nm에서 microplate reader로 비색정량하였다.

5. 세포독성평가

치은섬유세포(Gingival fibroblast, GF)와 MG63 cell을 이용하여 Hydroxyapatite(HA) 및 HA-coated zirconia(ZrO_2)에 대하여 세포독성평가를 시행했다. 치은섬유세포 및 MG63 cell을 0.25% trypsin-EDTA 용액으로 처리하고 원심분리하여 얻은 후, 배양액으로 세포부유액을 만들고 표준혈구계산기로 well 당 1x10^5개의 세포수가 되게 하여 96 well plate에 접종한 후 배양하였다. 24시간 후 배양액을 제거한 후 Hank's balanced solution으로 세척하고 대조군 및 HA와 HA-coated zirconia(ZrO_2)가 농도별로 함유된 배양액이 200㎕가 되게 하여 24시간 배양한 다음, 배양액을 제

Table 2. Cell proliferation in HA & HA-coated zirconia matrices (n = 3, mean±S.D.)

	Number of cells ($\times 10^4$/matrix)			
	HALL	HZLL	HZHL	HZHS
1 day	15.00±4.36	10.00±4.36	7.67±4.04	14.67±2.08
7 day	21.33±1.53	19.67±1.53	16.67±5.51	12.50±6.36
14 day	38.00±7.94*	55.67±11.59*	43.50±14.85*	44.50±4.95*

* : P 〈 0.05, as compared with 1 day in each group
HALL: HA with low porosity, large pores
HZLL: HA-coated Zirconia with low porosity, large pores
HZHL: HA-coated Zirconia with high porosity, large pores
HZHS: HA-coated Zirconia with high porosity, small pores

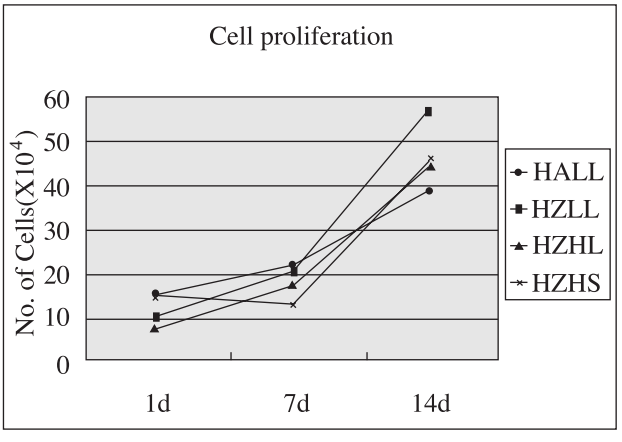

Figure 1. Number of cells in HA & HA-coated zirconia matrices.

거하고 생리식염수에 용해한 methyl thiazol-2-YL-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT)(Sigma, USA) 용액 50㎕를 각 well에 넣고 4시간동안 배양한 후 MTT용액을 제거하고 formazon결정을 용해시키기 위해 dimethyl sulfoxide(Sigma, USA)를 50㎕씩 첨가하였다. Plate를 잘 흔든 후, ELISA reader(Thermo max, molecular devices, MelanoPark, CA, USA)로 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 약제에 의한 세포활성효과는 대조군에 대한 백분율로 표시하였다.

6. 세포-시편 혼합체의 조직학적 관찰

1일, 14일째 시편내의 세포부착 및 증식의 3차원적 형태를 주사전자현미경(SEM)하에서 관찰하였다. 배양된 세포-시편 혼합체를 2.5%의 glutaraldehyde 고정액에서 20분간 고정 한 후, PBS 용액으로 2회에 걸쳐 10분간 수세하였다. 그 다음 1% aqueous OsO_4 postfixative(Electron Microscopy Sciences, Fort Washington, PA)로 후고정하고 재차 PBS 용액으로 2회에 걸쳐 수세하였다. 통법에 따라 Ethanol로 탈수를 시행한 후 금으로 코팅후 주사전자현미경(Jeol, USA)으로 관찰을 하였다

III. 결과

1.세포 부착 및 세포 증식의 평가

시편에 접종된 세포들은 시편 표면에 잘 부착되었

Table 3. Alkaline phosphatase activities of cells cultured in matrices(n = 3, mean±S.D.)

	Number of cells ($\times 10^4$/matrix)			
	HALL	HZLL	HZHL	HZHS
1 day	1.16±0.81	1.36±0.14	1.98±1.08	1.75±1.10
7 day	5.39±1.01*	4.18±2.44*	3.59±1.11*	6.66±0.13*
14 day	8.21±0.05*	6.52±0.09*	4.58±0.14*	8.57±0.24*

* : P 〈 0.05, as compared with 1 day in each group
HALL: HA with low porosity, large pores
HZLL: HA-coated Zirconia with low porosity, large pores
HZHL: HA-coated Zirconia with high porosity, large pores
HZHS: HA-coated Zirconia with high porosity, small pores

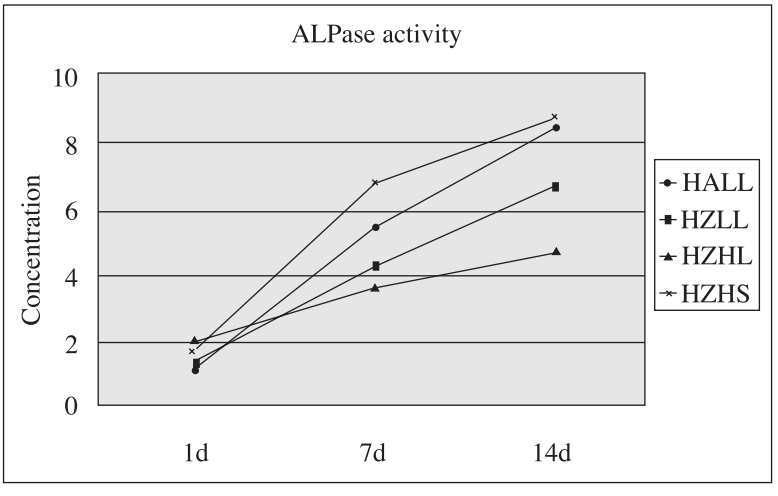

Figure 2. Alkaline phosphatase activities of cells cultured in matrices.

다. 전체적으로 모든 시편에서 세포의 수가 증가하는 양상을 보이며 1일째에 비해 14일째에 유의성 있는 세포 수의 증가를 보였다. 각 날짜에서 각 군간의 차이는 없었다(Table 2, Figure 1).

2. Alkaline Phosphatase 활성도 평가

Alkaline Phosphatase 활성도의 측정은 1일, 7일, 14일에서 시행되었다. 1일째에 비하여 7일, 14일째에 Alkaline Phosphatase 활성도가 증가하였으며 동일 시점에서 각 군간의 차이는 없었다. 1일째에 비해 7일, 14일 째에는 모든 군에서 통계학적 유의성 있는 Alkaline Phosphatase 활성도의 증가를 보였다 (Table 3, Figure 2).

3. 세포독성평가

치은섬유세포(Gingival fibroblast,GF)와 MG63 cell을 이용하여 Hydroxyapatite(HA) 및 Zirconia(ZrO_2)에 대하여 세포독성평가를 시행한 결과가 표와 그림에 나와있다. 보이는 바와 같이 치은섬유세포와 MG63 cell 모두 HA와 ZrO_2에 대하여 시약의 농도에

Table 4. Cell cytotoxicity (by rapid colorimetric assay)

Concentration(%)	Growth & survival rate(%)			
	Gingival Fibroblast		MG 63	
	HALL	HZLL	HALL	HZLL
100	95.34	83.70	88.81	95.71
50	93.77	88.37	97.93	100.60
25	91.50	81.01	92.74	102.43
10	92.04	82.42	95.75	99.00
5	91.77	80.87	98.26	99.73

HALL: HA with low porosity, large pores
HZLL: HA-coated Zirconia with low porosity, large pores

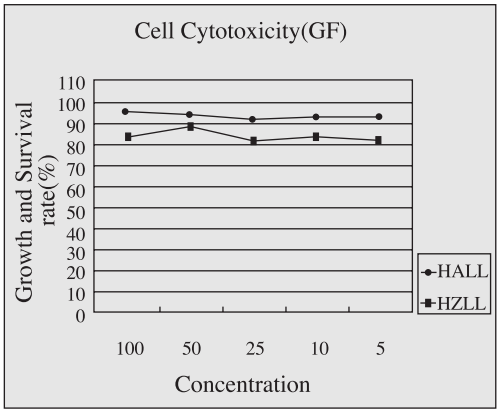

Figure 3. MTT assay of human gingival fibroblast
· HALL : HA matrix
· HZLL : HA-coated zirconia matrix

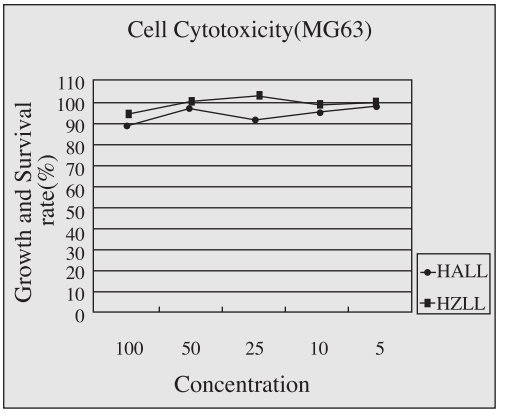

Figure 4. MTT assay of MG 63 cell
· HALL : HA matrix
· HZLL : HA-coated zirconia matrix

따른 별다른 증가 및 감소 양상을 보이지 않았으므로 HA와 ZrO_2 모두 세포독성은 없는 것으로 판단되었다(Table 4, Figure 3, 4).

4. 세포-시편 혼합체의 조직학적 관찰

조직학적 관찰은 주사전자현미경(SEM)으로 시행하였다. Figure 5-8은 1일째 20배 확대한 사진이며 각 시편의 다공율(porosity)와 소공(pore)의 크기를 알 수 있다. 작은 소공을 가진 시편의 소공은 300-500㎛ 정도의 크기이고, 큰 소공을 가진 시편의 소공은 500-700㎛정도의 크기이다. 1일째 500배 확대한 사진(Figure 9-12)을 관찰할 때 4가지 시편 모두에서 세포부착이 잘 이루어지고 있었고, 많은 세포가 시편 표면에 부착되어 있었다. 14일째 20배 확대한 사진(Figure 13-16)에서 세포의 증식이 활발하게 이루어져 소공이 부분적으로 막혀 있는 부위도 보인다. 동일한 시편을 500배 확대해서 관찰했을 때 세포 증식에 의해 개개의 세포를 분간하기 힘들었으며 세포가 여러 층을 이루고 있는 것이 보인다(Figure 17-20).

Ⅳ. 총괄 및 고찰

이번 연구는 물리적인 면에서 개선된 HA-coated

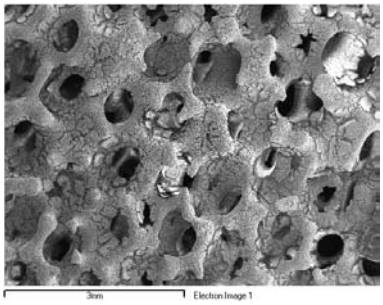

Figure 5. SEM view of HALL after 1 day of seeding(×20)

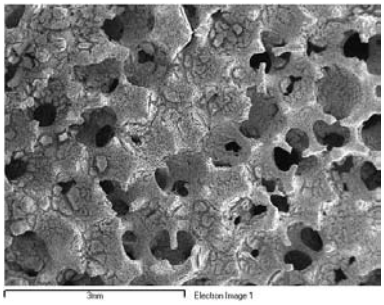

Figure 6. SEM view of HZLL after 1 day of seeding(×20)

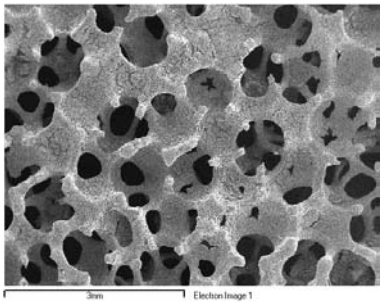

Figure 7. SEM view of HZHL after 1 day of seeding(×20)

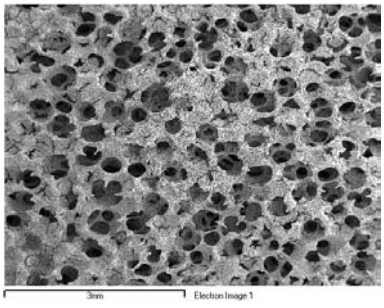

Figure 8. SEM view of HZHS after 1 day of seeding(×20)

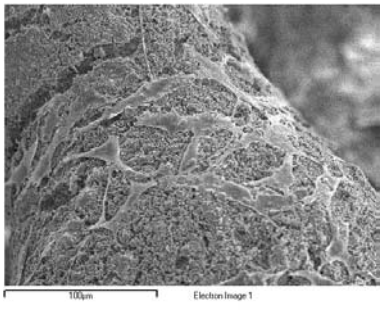

Figure 9. SEM view of HALL after 1 day of seeding(×500)

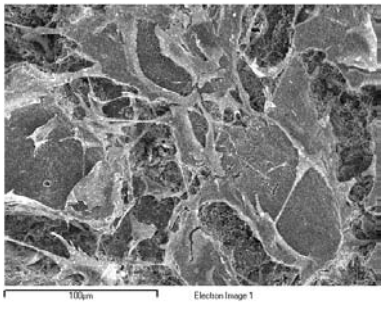

Figure 10. SEM view of HZLL after 1 day of seeding(×500)

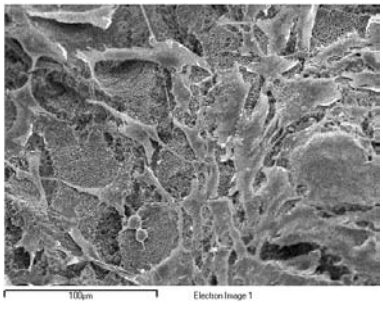

Figure 11. SEM view of HZHL after 1 day of seeding(×500)

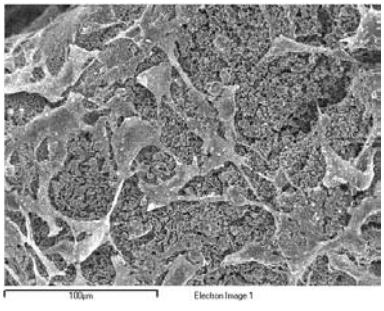

Figure 12. SEM view of HZHS after 1 day of seeding(×500)

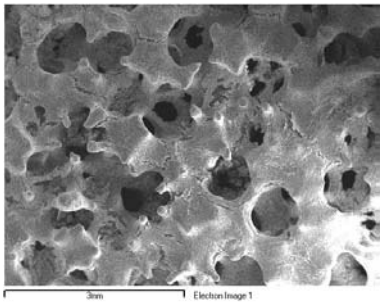

Figure 13. SEM view of HALL after 14 day of seeding(×20)

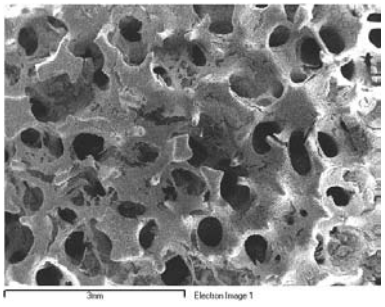

Figure 14. SEM view of HZLL after 14 day of seeding(×20)

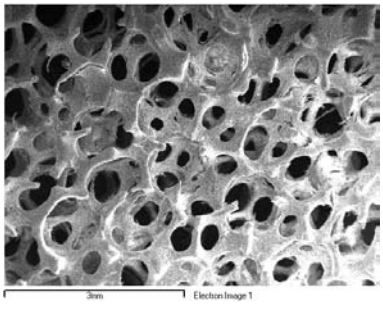

Figure 15. SEM view of HZHL after 14 day of seeding(×20)

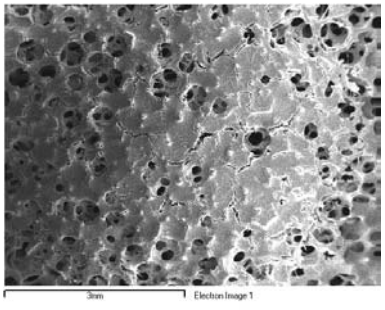

Figure 16. SEM view of HZHS after 14 day of seeding(×20)

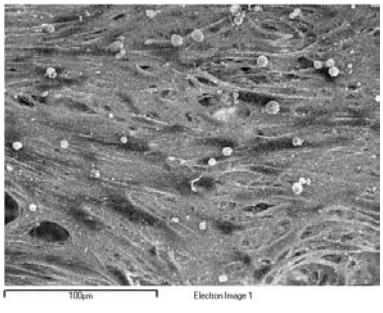

Figure 17. SEM view of HALL after 14 day of seeding(×500)

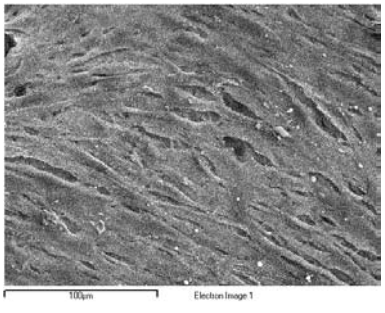

Figure 18. SEM view of HZLL after 14 day of seeding(×500)

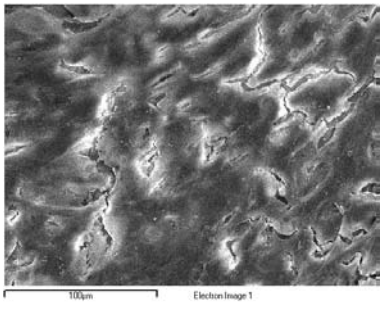

Figure 19. SEM view of HZHL after 14 day of seeding(×500)

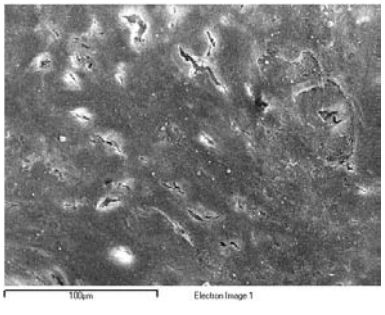

Figure 20. SEM view of HZHS after 14 day of seeding(×500)

zirconia의 생물학적 활성도를 알아보고자 했다. 생체이식재료 특히 골 대체물질에 있어서 생체활성물질의 도포(coating)은 보형물 또는 보철물(prosthesis)의 생체적합성 및 골융합을 향상시키는데 있어서 중요한 요소이다[18]. 이미 보형분야 또는 보철분야(prosthetic field)에서는 고밀도의 α-alumina(Al_2O_3), zirconia(ZrO_2)가 중요한 재료로서 이용되고 있다. 이들 재료는 높은 기계적 강도와 작업의 정밀성을 가지고 있으며 생체친화성을 보이고 생체조직의 어떠한 특이반응도 유발하지 않는 일종의 "almost-inert crystalline bioceramics"로 알려져있다[19]. 즉, 조직내에 이식되었을 때 조직과의 직접적인 화학적 반응(biological fixation)을 통한 접합보다는 단지 표면의 균열내로의 조직 증식(morphological fixation)을 통한 접합만이 일어난다. 이러한 이유로 이들 재료의 표면에 HA 등의 생체활성물질을 도포(coating)하면 생체적합성 및 골융합을 크게 향상시킬수 있을 것으로 기대된다.

오래전부터 지금까지도 정형외과분야에서 alumina가 널리 사용되고 있다. alumina는 좋은 생체적합성을 가지고 있으며 높은 내마모성(wear-resistant properties)를 가지고 있는 반면에 낮은 인장강도 및 fracture toughness를 보이므로 쉽게 부숴지는(brittle) 성질을 가지고 있다[20]. zirconia는 높은 fracture toughness 및 내마모성을 가지므로 관절(joint)의 대체물질로서 주목받고 있다[21].

일반적으로 HA/ TCP-biphasic material의 압축강도는 10-20MPa이고[22], macroporous β-TCP의 압축강도는 1-3MPa정도라고 알려져있다[23]. 일반적으로 안정화된 zirconia의 flexural strength는 500-1000MPa, fracture toughness는 5-8MPa/m^2 정도라고 알려져 있으며 HA-zirconia의 flexural strength는 그 밀도에 따라 차이가 있겠으나 대략 100-150MPa, fracture toughness는 1.0-2.3MPa/m^2 정도이다[18]. 참고로 Ti-implant의 tensile strength는 250-600MPa, Yield strength는 200-500MPa의 값을 보인다.

이전의 연구들을 통해 대체물질이 가지고 있어야 할 소공의 크기는 최소한 100㎛이상이어야하며, 150-200㎛ 정도가 골이 성장하는데 가장 알맞는 크기라고 알려져 있는데[9], 이는 실제 osteon의 크기가 평균 190㎛ 정도인 것을 생각할 때 어느 정도 일치한다[24]. 성공적인 골 이식재 또는 골 대체재로서 그 역할을 다하기 위해서는 소공 내부로의 혈관 증식과 그에 따는 골의 침착이 반드시 있어야하므로 적절한 소공의 크기를 갖는 것이 중요하다고 하겠다[25].

다공율(porosity) 또한 골의 침착 및 물질의 기계적 성질과 밀접한 관련이 있다. HA matrix의 양이 커지고 다공율이 감소할수록 기계적 강도는 증가하나 이는 matrix 내부로의 골의 성장을 감소시킬수 있다. HA matrix의 양(10.4% 이상)과 골의 침착(9.2%이하)과는 반비례의 관계가 성립되는 것으로 추측되고 있다[5].

이번 실험을 위해 제작된 시편은 그 소공의 크기가 적정수준으로 알려진 것보다 매우 큰 편이었다. 1일째 시편에 부착된 세포의 수가 적었던 것은 소공의 크기와 밀접한 관련이 있을 것으로 생각되는데 시편에 세포를 접종시에 큰 소공을 통해 세포가 빠져나갔을 가능성이 크다.

초기 세포의 부착 및 증식은 물질의 화학적 조성뿐만 아니라 물질의 구조적인 면, 즉 표면의 거칠기(roughness), 다공성(porosity), 형태(morphology), 표면장력(surface energy) 등에도 영향을 받는 것으로 알려져 있다[26]. 이러한 점에서 1군(HALL)과 2군(HZLL)이 각 시점에서 유사한 세포 부착 및 증식의 소견을 보여주었다는 것은 의미있는 일이다. 즉 다공성과 소공의 크기가 비슷한 조건에서 실험 시편에 따른 차이가 없었다는 것은 HA-coated zirconia의 생물학적 활성도가 HA와 유사함을 의미한다.

Alkaline phosphatase 활성도는 배양세포(MC3T3-E1 cell)가 골세포(osteoblast)로 분화되는 정도를 의미한다. 이번 실험에서 모든 군에서 시편을 넣지 않은 대조군에 비해 alkaline phosphatase 활성도가 높았던 것은 시편이 3차원적인 구조의 비계(scafford)의 역할을 충분히 했음을 의미하고 또한 HA가 골전도성(osteoconductivity)를 가지고 있음을 의미한다[17].

MG63 cell, gingival fibroblast의 배양을 통한 각 시편의 세포독성평가는 이들 재료의 세포독성이 미미함을 보여주었다. 또한 증식된 세포의 수와 성장하

는 세포의 형태를 보았을 때 HA-coated zirconia의 세포반응은 순수한 HA와 크게 다르지 않았다.

hemocytometer로 세포의 숫자를 측정하였을 때에는 시간 경과에 따른 세포의 증가가 크지 않았지만, 주사전자현미경에서 관찰했을 때에는 그 증가양상이 기하급수적이었다. 시편으로부터 세포를 떼어내기 위해 0.25% trypsin in 4mM EDTA 용액을 사용했지만, 시약에 의한 세포분리가 불충분해서 이후에도 시편 표면에 잔여 세포가 있었기 때문에 hemacytometer로 세포 수를 측정할 때 작은 값이 나왔을 가능성이 있다.

V. 결론

1. 4가지 시편 모두 소공(pore)간에 잘 연결되어 있는 3차원적 구조를 가지고 있었다.
2. 4가지 시편 모두에서 세포의 부착이 잘 있어났고, 모든 시편에서 1일째에 비해 14일째의 세포수가 유의성있게 증가하였다($P<0.05$). 각 날짜에서 시편간의 유의성 있는 차이는 없 었다.
3. 모든 시편에서 1일째에 비해 7일째, 14일째의 ALPase activity 는 유의성있게 증가하였으며, 각 시편간의 유의성있는 차이는 없었다.
4. 주사전자현미경에서 1일째에는 세포들이 잘 부착되어 증식하고 있었으며, 시간이 지남에 따라 세포의 수는 급격히 증가하여 세포가 여러 층을 형성하면서 뭉치는 현상을 보였다.
5. 물리적인 면에서 강화된 HA-coated zirconia는 HA와 비교해보았을 때 생물학적활성도 면에서 유사한 결과를 보여주었으므로 기계적인 강도가 요구되는 여러 부분에서 그 이용의 폭을 넓힐 수 있을 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Hench LL, Ethridge EC. Biomterials: an interfacial approach. New York: Academic Press, 1982
2. Suchanek W, Yoshimura M. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implant. J Mater Res. 1998;13:94-117
3. Legeros RZ. Apatites in biological systems. Prog Crystal Growth Char. 1981;4:1-45
4. Hench LL. Bioceramics:from concept to clinic. J Am Ceram Soc. 1991;74:1487-151
5. Holmes RE, Wardrop RW, Wolford LM. Hydroxylapatite as a bone graft substitute in orthognathic surgery: histologic and histometric findings. J Oral Maxillofac Surg. 1988 Aug;46(8):661-71.
6. Mehlisch DR, Leider AS, Roberts WE. Histologic evaluation of the bone/graft interface after mandibular augmentation with hydroxylapatite/purified fibrillar collagen composite implants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1990 Dec;70(6):685-92.
7. Nunes CR, Simske SJ, Sachdeva R, Wolford LM. Long-term ingrowth and apposition of porous hydroxylapatite implants. J Biomed Mater Res. 1997 Sep 15;36(4):560-3.
8. Ayers RA, Wolford LM, Bateman TA, Ferguson VL, Simske SJ. Quantification of bone ingrowth into porous block hydroxyapatite in humans. J Biomed Mater Res. 1999 Oct;47(1):54-9.
9. Klawitter JJ. A basic investigation of bone ingrowth into a porous ceramic material. Doctoral thesis. Clemson, South Carolina, Clemson Univ.,1970
10. Hench LL. Bioceramics:from concept to clinic. J Am Ceram Soc. 1991;74:1487-151
11. DeGroot K, De Putter C, Smitt P, Driessen A. Mechanical failure of artificial teeth made of dense calciumhydroxyapatite. Sci Ceram 1981;11:433-437
12. Tancred DC, Carr AJ, McCormack BAO. The sintering and mechanical behavior of hydroxyapatite with bioglass additions. J Mater Sci: Mater Med. 2001;12:81-93

13. Li J, Liao H, Hermanson L. Sintering of partially stabilized zirconia and partially stabilized zirconia-hydroxyapatite composites by hot isostatic pressing and pressureless sintering. Biomaterials 1996;17:1787-1790
14. Silva VV, Lameiras FS, Domingues RZ. Microstructural and mechanical study of zirconia-hydroxyapatite(ZH) composite ceramics for biomedical applications. Comput Sci Technol. 2001;61:301-310
15. Degaldo JA. Zirconia-toughened hydroxyapatite ceramic obtained by wet sintering. J Mater Sci: Mater Med 1999;10:715-719
16. Torricelli P, Verne E, Brovarone CV, Appendino P, Rustichelli F, Krajewski A. Biological glass coating on ceramic materials: in vitro evaluation using primary osteoblast culture from healthy and osteopenic rat bone. Biomaterials 2001;22:2535-2543
17. Ishaug SL, Crane GM, Miller MJ, Yasko AW, Yaszemski MJ, Mikos AG. Bone formation by three-dimensional stromal osteoblast culture in biodegradable polymer scaffolds. J Biomed Mater Res. 1997 Jul;36(1):17-28.
18. Kim HW, Noh YJ, Koh YH, Kim HE, Kim HM Effect of CaF2 on densification and properties of hydroxyapatite-zirconia composites for biomedical applications. Biomaterials. 2002;23:4113-4121
19. Hulbert SF. The use of alumina and zirconia in surgical implants. In: Henach LL, Wilson J, editors. An introduction to bioceramics, vol. 1. Singapore: World Scientific, 1993. p.25
20. Christel P, Meunier A, Heller M. Mechanical properties and short-term in vivo evaluation of yttrium oxide-partially stabilized zirconia. J Biomed Mater Res. 1989;23:4561
21. Kumar P, Shimizu K, Oka M, Kotoura Y. Low wear rate of UHMWPE against zirconia ceramic in comparison to alumina ceramic and SUS 316L alloy. J Biomed Mater Res. 1991;25:813-828
22. Bouler JM, Trecant M, Delecrin J, Royer J, Passuti N, Daculsi G. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of five synthesis parameters on compressive strength. J Biomed Mater Res. 1996 Dec;32(4):603-9.
23. Sous M, Bareille R, Rouais F, Clement D, Amedee J, Dupuy B, Baquey Ch. Cellular biocompatibility and resistance to compression of macroporous beta-tricalcium phosphate ceramics. Biomaterials. 1998 Dec;19(23):2147-53.
24. Parfitt AM. The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data, in Recker RR. Boca Raton, FL, CRC Press, 1983, pp 143-223
25. McAuley JP, Sychterz CJ, Engh CA Sr. Influence of porous coating level on proximal femoral remodeling. A postmortem analysis. Clin Orthop. 2000 Feb;(371):146-53.
26. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials: review. Biomaterials 2000;21 :667-681

-Abstract-

Biological Activities of HA-coated Zirconia

Suk-Woo Nam[1], Hae-Won Kim[2], Hyoun-Ee Kim[2], Seung-Min Yang[1,3], Seung-Youn Shin[1], Yong-Moo Lee[1], Chong-Pyoung Chung[1], Soo-Boo Han[1], Sang-Mook Choi[1], In-Chul Rhyu[1]

[1]Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University,
[2]School of Materials Science and Engineering, Seoul National University
[3]Department of Dentistry, College of Medicine, Sungkyunkwan University

Hydroxyapatite(HA) has been extensively used as bone graft materials and tooth implant surface coating materials because of its biocompatibility and osteoconductive properties. However, as HA is intrinsically poor in mechanical properties, zirconia(ZrO_2) was incorporated with HA as reinforcing phases for improvement of mechanical properties.

The purpose of this study was to investigate the biological activities of HA-coated zirconia through the cell proliferation test, measurements of alkaline phosphatase activity, and histologic examination. Four kinds of tested blocks were prepared according to the pore size (300-500㎛/500-700㎛) and the porosity (70%/90%).

Cell proliferation and alkaline phosphatase activity was measured at 1, 7, 14 days. The number of cells proliferate after 7, 14 days were significantly increased in all groups when compared with that of the first day, but there was no significant difference between the 4 groups at each time period. At the 7 day, alkaline phosphatase activities of cells cultured in 4 groups were higher than that of the first day, but there was no significant difference between the 4 groups at each time period.

The human gingival fibroblast and MG 63 cell was used to evaluate the cell cytotoxicity using MTT test. The materials tested in the current study turned out to be non-cytotoxic.

In histologic examination(SEM), at 1 day there were many cells attached on the surfaces of all kinds of tested blocks. The number of cells were increased over time. At the 14 day, there were more cells proliferated than 1 day and some of the pores of blocks were partially filled with the proliferated cells.

The in vitro response of osteoblast-like cells to the HA-coated zirconia showed comparable effect on transformation comparable to hydroxyapatite.

Key Words : Hydroxyapatite, ZrO_2, Biological activity, Osteoconduction