

방전플라즈마소결법에 의해 제조된 저탄성 타이타늄 다공질체의 생체적합성 평가

송호연[†] · 김영희 · 장세훈* · 오익현*

순천향대학교 의과대학

*한국생산기술연구원 광주연구센터

Biocompatibility of Low Modulus Porous Titanium Implants Fabricated by Spark Plasma Sintering

Ho-Yeon Song[†], Young-Hee Kim, Se-Hun Chang* and Ik-Hyun Oh*

Department of Microbiology, School of Medicine, Soonchunhyang University, 330-090, South Korea

*Korea Institute of industrial Technology(KITECH), Gwangju Research Center, 506-824, Korea

(2007년 2월 9일 받음, 2007년 2월 20일 최종수정본 받음)

Abstract Porous Ti compacts were fabricated by spark plasma sintering (SPS) method and their in vitro and in vivo biocompatibilities were investigated. Alkaline phosphatase (ALP) activity representing the activity of osteoblast was increased when osteoblast-like MG-63 cells were cultured on the Ti powder surface. Some genes related to cell growth were over-expressed through microarray analysis. The porous Ti compact with 32.2% of porosity was implanted in the subcutaneous tissue of rats to confirm in vivo cytotoxicity. 12 weeks post-operation, outer surface and inside the porous body was fully filled with fibrous tissue and the formation of new blood vessels were observed. No inflammatory response was confirmed. To investigate the osteoinduction, porous Ti compact was implanted in the femur of NZW rabbits for 4 months. Active in-growth of new bone from the surrounded compact bone was observed around the porous body. From the results, The porous Ti compacts fabricated by spark plasma sintering might be available for the application of the stem part of artificial hip joint.

Key words Spark plasma sintering, Porous titanium, Biocompatibility.

1. 서 론

인공관절 이식수술은 골다공증, 퇴행성관절염, 골종양 및 각종 사고에 의한 외상 등을 치료함으로써 통증해소 뿐만 아니라 관절의 기능을 유지시켜 활동성을 복원시켜 주기 때문에 최근 들어 광범위하게 시술되고 있다.¹⁾ 이는 지난 30여년간 인공관절 치환술 및 생체소재의 발전에 기인한 것이나 최근 인간 평균 수명의 연장으로 인해 가능한 재수술의 횟수를 줄일 수 있는 보다 긴 수명의 인공관절 개발이 절실히 요구되고 있다. 이상적인 인공관절은 생체 내의 열악한 환경에서 반복적이고 복잡한 하중에도 관절의 기능을 유지하며 장기간 견딜 수 있어야 한다.

인공고관절 치환술 후 인공관절의 수명과 내구성에 영향을 미치는 가장 중요한 원인²⁾ 임플란트의 기계적 불

안정으로 인한 무균성 해리와 골두 부분의 반복적인 운동과 인체의 하중유지에 의해서 생기는 마모입자가 인공관절의 비구컵과 스템부 주위의 골조직 흡수를 유발하여 인공관절이 느슨해짐으로써 발생하는 골용해 과정을 들 수 있다. 또한 인공고관절의 스템부와 천연뼈와의 골 유착능(osteoconductivity)도 인공고관절의 수명을 연장하는 중요한 요소이다. 따라서 내마모성과 생체친화성이 우수한 세라믹 골두 인공고관절의 개발과 함께 스템부의 골 유착능을 증가시키기 위한 많은 연구들이 진행되고 있다.³⁻⁷⁾

의료용 금속재료 중에서 타이타늄과 타이타늄 합금은 우수한 기계적 특성을 지니고 있어 인공고관절 뿐만 아니라 치과용 임플란트 재료로 널리 사용되어지고 있으며, 타이타늄 및 타이타늄 합금의 경우 생체적합성 및 내부식성 등이 우수하고 타 금속에 비해 비교적 낮은 탄성계수를 가지고 있어 임플란트 재료로 널리 쓰이고 있다.⁸⁻¹⁰⁾

그러나 금속계 인공관절의 경우 뼈와의 결합강도가 낮아 인공관절 치환술 시 골시멘트를 사용하여 인공관절을

[†]Corresponding author

E-Mail : songmic@sch.ac.kr (H.-Y. Song)

주변 뼈에 단단히 고정하는 방법이 주로 사용되는데 이 경우 수명이 다된 인공관절 교환 수술 시 시멘트의 제거에 어려움이 있기 때문에 골 시멘트를 사용하지 않으면서도 금속계 인공관절과 뼈와의 결합력을 높이기 위한 연구들이 계속되고 있다. 또한 금속계 임플란트는 뼈와의 탄성계수의 차이가 커서 시간이 경과 할수록 임플란트 주변 뼈 조직의 흡수가 서서히 진행되어 골밀도를 저하시켜 임플란트의 수명을 단축시키는 것이 문제점으로 대두 되고 있다.^{11,12)}

이러한 문제점을 해결하기 위해 본 연구의 선행연구를 통해¹³⁾ 회전전극법으로 제작된 구형의 타이타늄을 사용하여 저온에서 단시간에 소결이 가능한 방전플라즈마소결법으로 다공질 Ti 임플란트를 만들었다. 이렇게 제작된 타이타늄 다공질 임플란트는 기공내로의 골 성장이 충분히 일어나 인공관절 치환술 후 천연뼈와 임플란트 사이의 결합강도를 충분히 얻을 수 있고, 금속계 임플란트의 최대 단점인 높은 탄성계수로 인한 임플란트의 수명 단축을 줄일 수 있다.

따라서 본 연구에서는 플라즈마 회전전극법에 의해 제조된 150~250 μm 의 분말을 이용하여 방전플라즈마 소결법에 의해 제작된 32.2%의 기공율을 가지면서 사람의 치밀골(compact bone)의 탄성계수와 비슷한 다공성의 Ti 소결체에 대한 뼈모세포의 활성을 측정하였고, 동물의 피하에 이식하여 세포 독성 및 모세혈관의 형성 정도를 해부현미경과 SEM으로 관찰하였으며, 또한 다공질체를 동물 뼈에 이식하여 기공내로의 골 형성 정도를 micro-CT로 관찰하였다.

2. 실험 방법

2.1 연구재료

다공질 타이타늄 임플란트 제조를 위한 분말제조는 플라즈마 회전전극법 (plasma rotating electrode process)을 이용하였으며 제조조건은 10^{-6} torr의 고진공상태에서 고순도 아르곤으로 챔버 내부를 채운 후 타이타늄의 전극 (grade 2)의 회전속도를 150S^{-1} 로 하였으며 플라즈마 아크전류는 80A로 고정하였다. 제조 되어진 분말은 75~100 μm (평균입도: 94 μm), 150~250 μm (평균입도: 218 μm)와 300~550 μm (평균입도: 425 μm) 범위의 크기를 갖는 3종류로 각각 분급 (sieving)하여 입도변화에 따른 소결체의 특성변화를 고찰하였다. 이들 각각 입도가 틀린 분말의 방전플라즈마 소결을 위해 소결 전 직경 30 mm 흑연볼드에 장입 후 5분 동안 20 MPa의 예비압력을 인가하여 분말이 잘 충전 될 수 있도록 하였다. 소결은 $50^\circ\text{C}/\text{min}$ 의 가열속도, 3분의 유지시간으로 하였으며 목적온도는 순 타이타늄의 β 상 영역인 900°C 로 설정하였다. 또한 소결 중 인가압력 변화에 따른 소결체의

특성변화를 조사하기 위하여 상기한 소결온도 및 소결조건에서 무압력 조건과 10 MPa의 압력을 인가하였다.

2.2 연구 방법

1) 세포 배양

뼈모세포 유래인 MG-63 세포 (KCLB 21427)의 배양은 10% 우혈청 (FBS)과 항생제가 포함된 DMEM 배지를 사용하였으며, 37°C , 5% CO_2 배양기에서 증식시켰다.

2) Alkaline phosphatase activity

방전 플라즈마 소결법으로 제작된 Ti 분말을 고압증기 멸균법으로 121°C 에서 15분 동안 멸균을 하여 dry-oven에 24시간 이상 건조 시킨 후, 24-well 배양 용기에 1g의 분말을 넣은 후 뼈모세포 유래 MG-63 세포를 1×10^4 cells/well이 되도록 분주한 후, 10% 우혈청(Hyclone, SH30397), 10 mM L-glutaraldehyde 및 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ascorbic acid가 첨가된 DMEM (Gibco, 11965-092)으로 3일 동안 37°C , 5% CO_2 배양기에서 배양하였다.

일정 배양시간이 지난 후 배지를 완전히 제거하고 PBS buffer (pH 7.4)로 2번 수세한 후 0.5% triton x-100을 250 μl 를 첨가하였다. 세포막을 완전하게 파괴하기 위해 얼림과 녹임을 3회 반복한 후 3000 rpm에서 2분간 원심 분리 하였다. 세포 추출액 50 μl 에 2 mg/ml p-NPP (sigma, P5744)를 50 μl 를 첨가하여 30분간 배양한 후 100 μl 의 2N NaOH를 첨가하였다. ELISA reader (EL 312e, Bio-tek)를 사용하여 405 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며 ALP의 농도는 p-NP (sigma, N7660)를 기준으로 하여 정량하였다.

3) Ti 분말에 의한 뼈모세포의 유전자 발현

방전플라즈마소결법으로 제조된 Ti 분말 위에서 기른 뼈모세포 (MG-63)의 유전적 변화의 차이를 알아보기 위해 microarray 분석을 수행하였다. Ti 분말을 고압증기 멸균법으로 121°C 에서 15분 동안 멸균을 하여 dry-oven에 24시간 이상 건조 시킨 후, 10 cm^2 배양 용기에 1g의 각 분말들을 넣은 후 뼈모세포 유래 MG-63 세포를 5×10^6 cells/dish가 되도록 분주한 후, 10% 우혈청(Hyclone, SH30397)첨가된 DMEM (Gibco, 11965-092)으로 37°C , 5% CO_2 배양기에서 24시간 동안 처리하고 일반 배양배지에서 자란 MG-63 세포를 대조군으로 사용하여 유전자 발현의 차이를 비교 관찰 하였다.

본 실험에서 사용된 cDNA chip은 이미 알려져 있는 17,488개의 human cDNA clone의 염기서열을 포함하고 있는 cDNA chip (지노믹트리)을 사용하였다. 대조군의 total RNA 100 μg 에 녹색 형광물질인 cy3-dUTP를 넣고 실험군의 total RNA 100 μg 에 빨간색 형광물질인 cy5-dUTP를 넣어 42°C 에서 2시간 동안 역전사 반응을 통해 cDNA를 합성하였다. cy3-dUTP로 표지된 대조군과 cy5-dUTP로 표지된 실험군의 cDNA는 PCR purification

kit (Qiagen)를 사용하여 정제하였다. 이렇게 정제된 cDNA가 포함되어 있는 hybridization 용액(5X SSC, 0.1% SDS, 50% formamide), 20 ug의 Mouse Hybloc DNA (Applied Genetics Laboratories, Inc., Australia), 20 ug의 poly A RNA (Sigma), 20 ug의 Yeast tRNA (Invitrogen)과 혼합하였다. 이 혼합액은 100°C에서 2-3분간 가열한 후 즉시 cDNA chip 위에 올려 42°C에서 12-16시간 동안 hybridization을 실시하였다. 반응을 마친 cDNA chip은 2X SSC/0.1% SDS에서 5분, 0.1X SSC/0.1% SDS에서 10분, 그리고 0.1% SSC에서 2분 동안 2번 수세하였다. 이렇게 수세된 cDNA chip은 즉시 slides centrifuge에 의해 건조시켰다. 잡종화 반응을 마친 cDNA chip의 이미지는 Genepix 4.0에 의해 분석하고 각 spot 형광 빛의 세기의 평균을 계산하였다. 모든 데이터의 평균화와 발현이 증감된 유전자의 분리는 Genespring 7.3을 사용하여 수행하였다.

4) 동물 피하 내 이식

암수 구별 없이 250-300 gm 정도의 랫트 6마리의 등 피하조직에 방전플라즈마소결법에 의해 제조된 Ti 다공질 소결체를 이식하였다. 소결체 이식 수술 전에 1.5 mg/kg의 케타라(Yuhan, Seoul, Korea)를 복강 내 주사하여 전신 마취를 시켰다. 70% 에탄올과 베타딘으로 등을 소독하여 2 cm 정도를 절개한 후 피하조직에 멸균된 시편을 삽입하고 봉합하였다. 삽입 후 12주에 랫트를 살 처분하여 소결체 이식 부위의 염증 반응을 관찰하고 조직 형태 및 새로 형성된 모세 혈관의 형성을 해부현미경과 SEM으로 관찰하였다.

5) 동물 뼈 내 이식

암컷 NZW rabbit (2.5~3 kg) 4마리의 대퇴부의 해면골에 다공질 시편을 이식한 뒤 다공질체 내로의 천연뼈 유도(osteinduction) 관찰하였다. 토끼는 케타라(1.5 mg/kg, Yuhan, Seoul, Korea)를 근육 주사하여 전신 마취한 후 슬관절부를 포함하여 경골부 피부를 제모하고 베타딘 용액을 도포하여 소독하였다. 대퇴골 상단 (proximal femur)을 수술용 드릴을 이용하여 직경 5 mm 깊이 11 mm의 구멍을 뚫은 후 생리 식염수로 충분히 세정하고 골편등을 제거한 후 다공질체를 골수강에 도달할 때까지 매입하였다. 창상을 봉합한 후 창상 감염 예방을 위해 겐타마이신 3 mg/kg을 근주 하였다. 이식 후 2주 간격으로 X-ray를 촬영하고 혈액 검사를 통해 염증반응과 같은 혈액학적 변화를 관찰하였고, 4개월 후 토끼를 살 처분하여 새로운 뼈의 형성 정도와 다공질 이식체와 천연뼈 사이의 변화 양상을 micro-CT을 통해 관찰하였다.

6) 이식 시편의 미세단층 (micro-CT) 촬영

방전플라즈마소결법에 의해 제조된 Ti 소결체에서의 새로운 뼈의 유착 및 성장 정도를 자세히 관찰하기 위해 토끼를 살 처분 후 대퇴골을 절단 하여 얻어진 시편을

흐르는 물에 씻은 후 10% formaldehyde 용액에 담아 보관하였다. 획득한 이식 시편은 미세단층 촬영기를 이용하여 시편의 장축에 직각이 되는 2차원 횡단면 영상(픽셀크기: 19.93 μm)을 총 32회에 걸쳐 1,024장 촬영하였다. 시편의 촬영은 (spot size < 5 μm)은 직경이 14 mm의 샘플 지지대를 사용하여 촬영하였으며 배율은 12 배로서 픽셀의 크기는 19.93 μm 로 설정하였다. 횡단면의 거리가 19.93 μm 가 되도록 1,024장의 횡단면 영상을 약 2시간 40분 동안 촬영하였다. 이 영상을 Tomo-NTM (SkyScan) 소프트웨어를 이용하여 2차원 이미지로 약 10시간 동안 횡단면 영상을 획득하였다.

3. 결과 및 고찰

Ti 분말로 제작된 다공질 소결체의 경우 새로운 뼈 세포의 원활한 성장을 위한 최적의 기공율은 20~50%로 알려져 있으며,¹⁴⁾ 뼈의 영률과 비슷한 값을 나타낸 다공질 소결체의 경우 임플란트의 응용 시 신생 뼈 세포의 성장에도 적합한 것으로 알려져 있다. 금속계 인공고관절의 스템부에 널리 쓰이는 타이타늄의 경우 뼈 보다 훨씬 높은 탄성률(순 타이타늄: 110 GPa, 뼈: 10~30 GPa)로 인해 뼈 속에 이식되었을 때 주변 뼈 조직의 흡수 현상이 발생하여 임플란트의 수명을 단축시키는 문제점이 있다.^{11,12)} 따라서 뼈와 비슷한 탄성계수를 가지면서 임플란트 주변 뼈 세포의 성장 유도 및 우수한 유착을 위해 금속계 인공고관절의 스템부를 다공질체로 제작하는 연구들이 진행되어 왔다. 본 연구의 선행연구¹⁵⁾에서 150~250 μm 의 분말을 이용하여 방전플라즈마 소결법에 의해 제작된 31%에서 36%의 기공율을 가지는 타이타늄 다공질체가 사람 뼈의 탄성계수와 비슷한 저탄성(10~30 GPa) 다공질 소결체임을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 방전플라즈마 소결법에 의해 제작된 32.2%의 기공율을 나타내는 저탄성 다공질 타이타늄 소결체에 대한 뼈모세포의 활성화 및 분화의 정도와 다공질 소결체 위에서 자란 뼈모세포의 유전자 발현 변화 및 동물 체내로의 이식을 통한 생체적합성, 새로운 뼈 형성 정도 및 뼈 부착의 양상을 관찰하였다. Ti 분말 용출액에 대한 세포독성 평가 결과 대조군 대비 85% 이상의 섬유아세포 생존율을 보여 본 소재가 세포독성이 없는 것으로 보고한 바 있다.¹³⁾ Alkaline phosphatase의 측정은 뼈 형성 초기단계에 뼈모세포의 활성화 및 분화의 정도를 확인할 수 있다. Fig. 1은 일반적으로 세포배양에 사용되는 배양 용기에서 자란 뼈모세포와 방전 플라즈마 소결체로 제조된 Ti 위에서 자란 뼈모세포의 ALP 활성을 비교한 것이다. 실험 결과 대조군에 비해 Ti 분말 위에서 배양한 MG-63 세포에서 ALP 효소의 발현이 높게 나타난 것을 확인 하였다. 이는 플라즈마 회전 전극

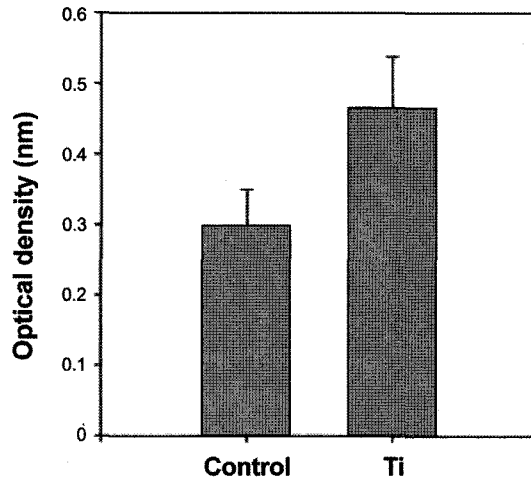


Fig. 1. ALP activity expressed by osteoblast-like MG-63 cells cultured on the Ti powders.

법으로 제조된 Ti가 뼈모세포의 활성을 유도하고 나아가 뼈의 활성을 증가시키는 생체 소재임을 확인 할 수 있었다.

방전 플라즈마 소결법으로 제조된 Ti 분말 위에서 자란 뼈모세포와 일반적인 세포 배양용기에서 자란 세포의 유전자 발현의 차이를 알아보려고 하였다. 한번에 약 1만 5천여 개의 유전자 발현의 차이를 비교 및 분석을 할 수 있는 대용량 유전자 활동 분석 시스템인 microarray를 수행 하였다. Microarray의 결과, 실험적 의의를 갖는 4배 이상의 변화를 가진 유전자를 대조군과 비교해보았을 때 Ti에 의해 12개의 유전자의 발현이 증가되었고 13개의 유전자의 발현이 감소되었다 (Table 1, 2). 발현의 차이를 보이는 유전자들을 살펴보면 세포의 증식과 성장에 관여하는 TNFRSF12A, PCNA 및 EEF1E1 등의 유전자의 발현이 증가하였고, 효소 발현에 관여하는

Table 1. Expression profiles of genes showing up-regulation over 4-fold when osteoblast-like MG-63 cells cultured with Ti powder.

Systematic	Common	Description
N54794	SERPINE1	Serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 1
AI361383	CCNE2	Cyclin E2
N91962	EEF1E1	Eukaryotic translation elongation factor 1 epsilon 1
AA461467	ODC1	Ornithine decarboxylase 1
W51794		Transcribed locus
AI221536	TNFRSF12A	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 12A
AA701860	FOLR1	Folate receptor 1 (adult)
AA504814	GC	Group-specific component (vitamin D binding protein)
AA450265	PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
AA663941	LOC387882	LOC387882 hypothetical protein
AA129135		zo12a10.s1 Stratagene colon (#937204) Homo sapiens cDNA clone IMAGE:586650 3', mRNA sequence.
AA670357		Transcribed locus
AA156940	TPM1	Tropomyosin 1 (alpha)

Table 2. Expression profiles of genes showing down-regulation over 4-fold when osteoblast-like MG-63 cells cultured with Ti powder.

Systematic	Common	Description
AA669637	PNRC1	Proline-rich nuclear receptor coactivator 1
AA400234	CFB	Complement factor B
AA912032		oi49e11.s1 NCI_CGAP_HN3 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:1486028 3' similar to TR:Q60056 Q60056 SINGLE-STRAND BINDING PROTEIN ;, mRNA sequence.
AA934769		om78f01.s1 NCI_CGAP_Kid3 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:1553305 3', mRNA sequence.
N66001	PNPLA8	Patatin-like phospholipase domain containing 8
AA457042	MX1	Myxovirus (influenza virus) resistance 1, interferon-inducible protein p78 (mouse)
AA158991	MVP	Major vault protein
T50121	MAFB	V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B (avian)
AA243749	DDR2	Discoidin domain receptor family, member 2
R89615	PCDHGC3	Protocadherin gamma subfamily C, 3
AI972269	MYLK	Myosin, light polypeptide kinase
T69164		Transcribed locus

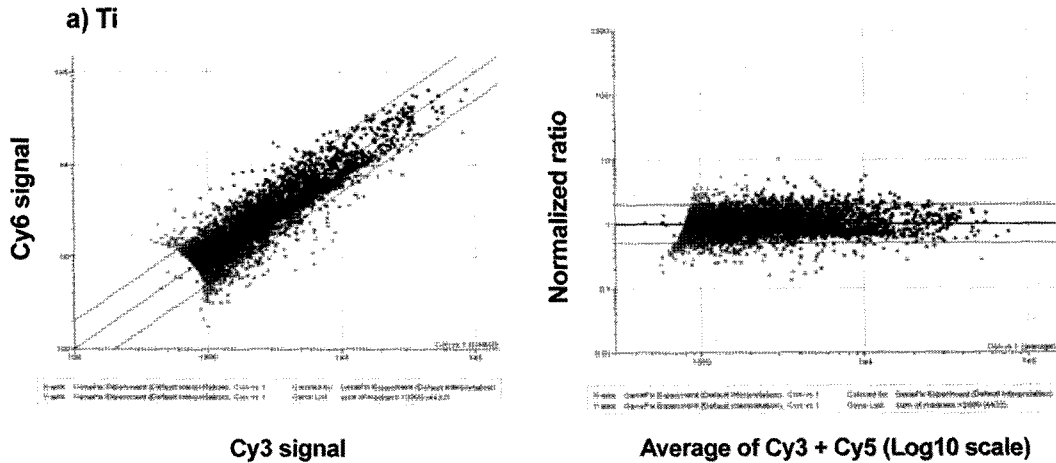


Fig. 2. Scatter plots of cDNA of osteoblast MG-63 cells treated with Ti powders for 24 hours : Each single spot represent a specific cDNA.

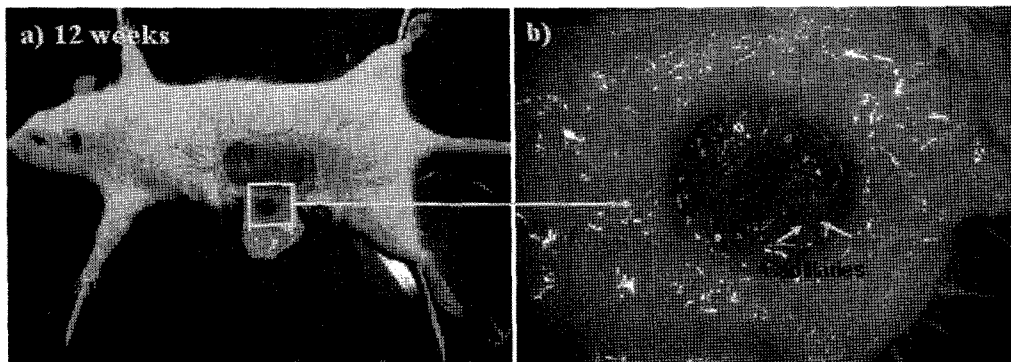


Fig. 3. Photographs of Ti compact implanted in the back of rats (a). The porous body was surrounded with well-developed fibrous tissue without any inflammatory response at 12 weeks post-operation (b).

MYLK, PNPLA8 유전자와 신호 변환에 관여하는 DDR2 유전자의 발현이 감소하였다. 이는 Ti가 세포의 증식과 성장을 유도하는 유전자의 발현을 증가시킴으로써 뼈모세포의 활성을 증가시켜 새로운 뼈의 형성을 촉진하는 생체 친화성 소재로 사료 되어진다.

생체적합성과 다공질 내로의 섬유아세포들이 증식해 가는 형태를 관찰하기 위하여 흰쥐(rat)의 등에 Ti 소결체를 이식한 후 12주 후에 제거하여 소결체 주위에서의 염증반응 유무를 관찰하였고, 다공질 내부로 침투되어 성장하는 세포의 형태를 관찰하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 이식 12주 후 관찰한 다공질 소결체는 섬유세포에 의해 잘 둘러싸여 있었고 새로운 모세혈관들이 다공질 주위에서 관찰되었으며 이식된 다공질체 주변 피부에서 염증반응이 관찰되지 않았다. 조직에 잘 싸여진 소결체의 표면을 SEM으로 관찰한 결과 (Fig. 4), 모세혈관을 뚜렷하게 관찰할 수 있었고, 또한 소결체를 절단하여 소결체 내부를 SEM으로 관찰한 결과 섬유아세포의

매우 활발한 증식과 함께 이들 세포들에게 산소와 영양 성분을 공급하기 위한 모세혈관의 침투를 확인 할 수 있었다. 이는 본 연구에서 제작된 Ti 소결체가 세포의 활발한 증식을 유도 할 수 있는 적당한 비율의 기공률과 모세혈관의 생성에 용이한 적절한 크기의 기공으로 제어된 생체친화성이 우수한 소재임을 확인할 수 있었다.

NZW rabbit의 대퇴골 하단에 수술용 드릴을 이용 인위적 결손 부위 (5×11 mm)를 만든 뒤 Ti 다공질체를 이식한 토끼들은 수술 후 24시간 내에 외견상 정상 상태를 유지하였다. 2주 간격으로 시행한 혈액 검사에서 대조군과 비교하여 모두 정상 소견을 보였고, Fig. 5에서 보는 바와 같이, X-ray 판독 결과 시일이 지남에 따라 새로운 뼈가 형성되어 결손 부위와 다공성 이식체 사이가 불분명해 지는 것을 확인 할 수 있었다. 12주 후 살처분 하여 micro-CT를 촬영한 결과 새로 형성된 뼈가 다공질 내로 활발히 차 들어가는 모양을 확인 할 수 있었다. Fig. 6는 Micro-CT의 2차원 횡단면 영상으로 골

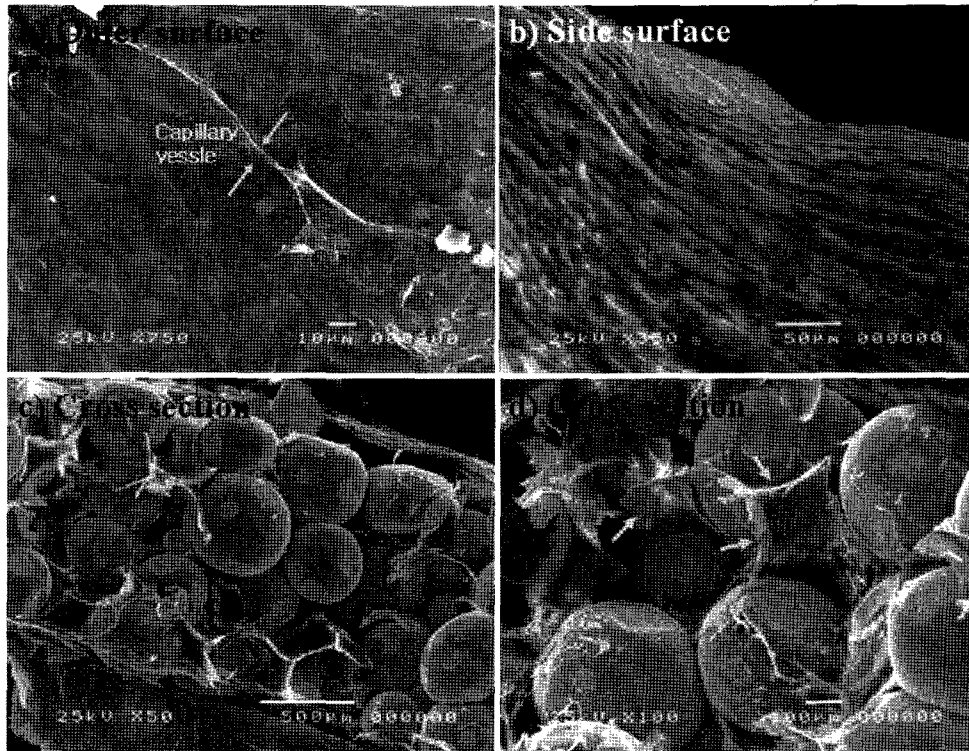


Fig. 4. SEM images of the porous Ti bodies removed from the rat. The formation of new capillaries were found on the outer surface of porous body (a). Active in-growth of fibroblasts (arrows) from the outer surface was observed through the cross-sectioned entire Ti porous bodies (b, c, d).



Fig. 5. X-ray photographs of porous Ti body implanted in the femur of NZW rabbits. a); control rabbit, b); after 2 weeks, c); after 12 weeks.

수강 내부에 이식된 Ti 다공질체 내로 새로운 뼈들이 차 들어 오는 것을 확인 할 수 있었고 새로 생성된 뼈가 다공질체에 안정적으로 부착되어져 있음을 관찰하였다. 그

러나 골수강의 직경에 비해 Ti 다공질체가 너무 작아 다공질체가 주변 뼈와 너무 멀리 떨어져 있는 관계로 모든 방향에서의 왕성한 골 유도에 의한 다공질체의 단단

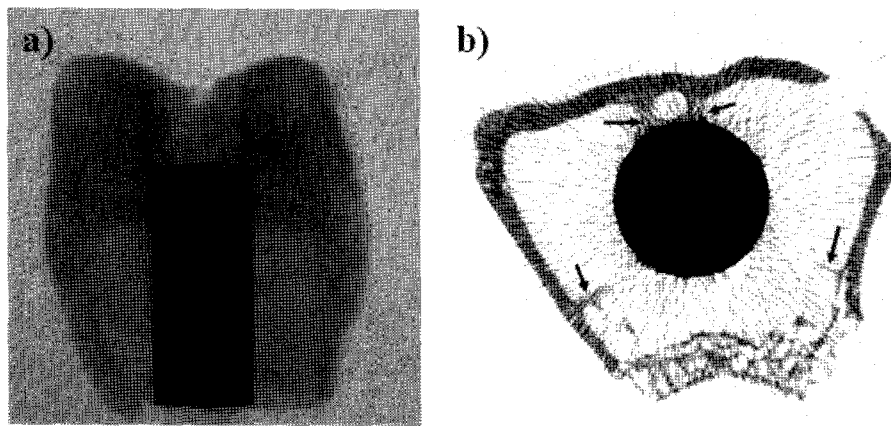


Fig. 6. X-ray photograph (a) and 2-D cross-section images of micro-CT of Ti porous body implanted in the femur of rabbit (b). Active in-growth of new bone (arrows) from the outer compact bone was observed around the Ti porous body.

한 고정은 관찰되지 않았다. 따라서 Ti 다공질체의 이식 수술시 골수강 직경 대비 임플란트의 크기도 골 유도 및 골 유착에 중요한 요소로 사료된다.

4. 결 론

플라즈마 회전극법에 의해 제조된 150~250 μm 의 분말을 이용하여 방전플라즈마 소결법에 의해 뼈의 탄성계수와 비슷한 저탄성 다공질 Ti 소결체를 제조하였다. 제조된 다공질체에 대한 뼈모세포의 활성을 측정하였고, 동물 피하에 이식하여 염증반응 유무와 모세혈관의 형성 정도를 관찰하였고, 또한 다공질체를 뼈에 이식하여 골 형성 정도를 micro-CT로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 뼈모세포의 활성에 관여하는 alkaline phosphatase가 대조군에 비해 Ti 분말 위에서 배양한 MG-63 세포에서 발현이 높게 나타났다.

2. Microarray에 의한 유전자 발현의 차이를 비교 및 분석한 결과 Ti 분말 위에서 자란 뼈모세포에서 12개의 유전자의 발현이 증가 되었고 그 중 세포의 증식과 성장에 관여하는 TNFRSF12A, PCNA 및 EEF1E1등의 유전자 발현을 확인하였다.

3. Ti 다공질체를 흰쥐의 등에 이식한 후 12주 후에 관찰한 결과 Ti 다공질체 주위에서 어떠한 염증소견도 관찰되지 않았다. 다공질 Ti 소결체는 섬유아세포에 의해 잘 둘러싸여 있었고 소결체 내부에서도 외부와 마찬가지로 섬유아세포의 매우 활발한 증식과 함께 이들 세포들에게 산소와 영양성분을 공급하기 위한 모세혈관의 침투를 확인하였다.

4. Ti 다공질체를 토끼의 대퇴골에 이식한 후 12주 후에 micro-CT 및 SEM으로 관찰한 결과 골수강 내부에

이식된 Ti 다공질체 내로 새로운 뼈들이 차들어 오는 것을 확인 할 수 있었고 새로 생성된 뼈가 다공질체에 안정적으로 부착되어져 있을 뿐만 아니라 다공질체 내부로 의 뼈 성장을 확인 할 수 있었다

이상의 결과를 종합하여 보면, 방전플라즈마소결법에 의해 제조된 저탄성 Ti 다공질체는 우수한 생체적합성과 함께 활발한 골 유착 및 뼈 유도성을 나타내는 것으로 보아 기공의 크기 및 기공율 등이 잘 제어된 우수한 생체 소재로서 인공고관절의 스텝부 등에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 광주지역 첨단부품·소재 인프라구축사업의 일환인 공동핵심기술개발 사업비에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. D. S. Hwang, A. S. Shanbhang, H. O. Bailey and H. E. Rubash, J. Kor. Hip. Soc., 7, 149 (1995).
2. K. Kieswetter, Z. Schwartz, T. W. Hummert, D. L. Cochran, J. Simpson, D. D. Dean and B. D. Boyan, J. Biomed. Mater. Res., 32, 55 (1996).
3. M. Wagner and H. Wagner, Clin. Orthop., 379, 123 (2000).
4. J. P. Garino, Clin. Orthop., 379, 41 (2000).
5. L. Sedel, Clin. Orthop., 379, 48 (2000).
6. L. Sedel, P. Bizot, R. Nizard and A. Meunier, Semin. Arthroplasty, 9, 123 (1998).
7. M. Winter, P. Griss and G. Scheller, Clin. Orthop., 282, 73 (1992).
8. B. Y. Li, L. J. Long, Y. Y. Li and V. E. Gjunter, Acta Mater., 48, 38 (2000).

9. D. Kuroda, M. Minomi, M. Morinaga, Y. Kato and T. Yashiro, *Mater. Sci. Eng.*, **243**, 2 (1989).
10. Y. Okazaki, E. Nishimura, H. Nakada and K. Kobayashi, *Biomaterials.*, **22**, 5 (2001).
11. M. Long and H. J. Rack, *Biomaterials.*, **19**, 16 (1998).
12. E. Whiteside, *Clin. Orthop.*, **248**, 2 (1998).
13. I. H. Oh, H. T. Son, S. H. Chang, H. M. Kim, K. Y. Lee, S. S. Park and H. Y. Song, *J. Kor. Inst. Met & Mater*, **44**, 6 (2006).
14. M. Thieme, K. P. Witeter, F. Bergner, D. Scharnweber, H. Worch and J. Ndop, *Mater. Sci. Forum.*, **308**, 3 (1999).