

임플란트 표면 처리 방법에 따른 골조직 반응에 대한 연구

단국대학교 치과대학 치과보철학교실

김용재 · 조인호

I. 서 론

최근 들어 역학적인 연구 및 임플란트 기술의 단순화와 더불어 표면 거칠기의 변화로 성공률을 향상시키기 위한 여러 연구가 이루어지고 있다.¹⁻³⁾ 특히 골질이 나쁘거나 골양이 부족한 경우에서 성공률을 증가시키기 위한 여러 시도가 있어왔으며 세계 임플란트의 흐름은 거친 표면을 가진 임플란트가 중심이 되고 있다.³⁻⁵⁾ 여러 연구에서 거친 표면을 가진 임플란트가 더 높은 골-금속 접촉율과 더 빠르고 더 견고한 골-금속 유착을 나타낸다고 보고 하였다.⁶⁻¹¹⁾ 그러나 Wennerberg 등^{12,13)}은 일정한 수치를 초과한 표면의 거칠기는 오히려 골 창상의 치유를 지연시켜 접촉율이 떨어진다고 보고 하였다.

티타늄플라스마 분사(titanium plasma spray), 수산화인회석 코팅(hydroxyapatite coating), 산부식(acid etching), 샌드블라스팅(sandblasting), 양극산화(anodizing oxidation) 등은 임플란트 표면을 변화시킴으로써 골과 임플란트 접촉의 증가를 얻기 위한 방법이다. 이 후 근래 들어 임플란트 표면을 황산이나 염산으로 산부식시킨 제품들이나 Al₂O₃ 혹은 TiO₂나 TiO₃를 이용하여 표면을 거칠게 한 제품들이 많이 사용되고 있다.^{14,15)}

최근 임상적으로 많이 사용되고 상업적으로 주목 받고 있는 표면 처리법으로 SLA(Sandblasted Large grit Acid etched), RBM(Resorbable Blast Media)을 들 수 있는데 SLA는 블라스트 입자를 이용한

macro roughness와, 산부식을 통한 micro roughness를 부여하는 방법이며 RBM은 흡수성 블라스트 입자인 수산화인회석이나 트리칼슘포스페이트 등을 이용하여 표면 처리 한 것이다. 본 연구에서는 Machined 임플란트와 SLA, RBM 처리 임플란트를 가토의 경골에 식립하여 조직학적 및 조직형태계측학적으로 비교하고 EDS(Energy Dispersive X-ray Spectroscope)를 이용하여 치유 기간별 골 성분 및 Ca/P ratio 변화의 분석을 통해 골형성의 과정을 관찰해 보고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 실험재료 및 실험기구

(1) 실험 동물

이번 연구에서는 성별에 관계없이 몸무게가 3-4kg인 뉴질랜드산 가토를 총 20마리 사용 하였으며 가토의 좌우측 경골에 3개 실험군의 임플란트를 편측당 각각 1개씩 양측에 모두 6개의 임플란트를 식립하고 1, 4, 8, 12주에 희생 시켰다.

(2) 임플란트의 제작

본 연구를 위하여 Machined, SLA, RBM 등 3가지의 다른 표면 처리 방법으로 만든 임플란트를 사용 하였다. 직경 3.0mm, 길이 5.0mm의 임플란트를 각 군당 40개씩 모두 120개를 제작 하였다(Table I).

Table I. The classification of experimental group

Surface treatment	Diameter	Length	Number
Machined	3.0mm	5.0mm	40
*SLA	3.0mm	5.0mm	40
**RBM	3.0mm	5.0mm	40

*SLA : Sandblasted Large grit Acid etched.

**RBM : Resorbable Blast Media.

표면을 50 μm 이산화티타늄(TiO_2)로 블라스팅한 후 HCL/ H_2SO_4 을 이용하여 산부식을 시행하였고 RBM 임플란트는 표면을 40-80mesh의 수산화인회석으로 블라스팅 하였다.

(3) Exakt cutting & grinding system (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Germany)

시편을 술자가 원하는 두께로 제작하는 장치로 골, 치아, 조직, 금속 등의 실험시편을 두 물질의 계면이 분열되지 않도록 절단할 수 있다.

(4) 조직형태계측학적 측정 장비

컴퓨터 및 연결된 현미경으로 구성된 영상계측프로그램을 이용하여 골-임플란트 접촉율과 골 면적을 측정할 수 있다.

(5) EDS(Energy Dispersive X-ray Spectroscopie) EDS(Horiba Co., Kyoto, Japan)는 전자 현미경에서 방출한 전자를 분석 하고자하는 시편에 충돌시켜 발생하는 특성 X선을 검출하여 분석하는 장비이다.

2. 실험방법

(1) 임플란트의 식립

가토의 좌, 우측 경골의 골 간단(metaphysis)부위를 절개하여 노출시킨 부위에 각 군당 1개씩 가토 당 총 6개의 임플란트를 식립 하였다. 수술 직 후 부터 일주일간 항생제를 투여 하였으며 7일 후 봉합사를 제거 하였다.

(2) 실험 동물의 희생

임플란트 식립 후 1주, 4주, 8주, 12주 군으로 분류

하고 thiopental sodium을 과용량 정맥 투여하여 가토를 희생 시켰다.

(3) 광학현미경학적 관찰을 위한 시편 제작

1) 탈수 및 레진 포매

알코올 농도를 높여가면서 조직 표본의 탈수를 시행하였다. Spurr 레진(Polyscience Inc., Niles, USA)으로 제조사의 지시에 따라 포매 하였다.

2) 절단 및 연마

최종 두께가 20 μm 이하가 되도록 연마하여 비 탈회 표본을 제작하였다.

3) 표본의 염색

조직학적 관찰 및 조직형태계측학적 분석을 위해 toluidine blue 염색을 시행하였다. 또한 신생골 조직에서 콜라겐 성분의 축적과정을 확인하기 위한 염색인 Masson's trichrome 염색을 시행하여 또 다른 광학현미경 시편을 제작 하였다. Weigert's iron hematoxylin 용액으로 핵을 염색한 다음 Biebrich scalet-acid fuchsin 용액과 phosphomolybdic acid 용액 및 aniline blue 용액으로 처리하여 세포질 및 조직성분을 염색하였다.

(4) 조직형태계측학적 분석

골-임플란트 접촉율을 상부 3개의 나사선에서 100 배율로 관찰하여 측정 하였고 골-임플란트 접촉율을 측정된 나사선 부위의 일정한 면적 내에서 실제 골 조직이 차지하는 면적의 백분율인 골 면적율을 측정하여 평균값을 얻었다.

(5) 광학현미경관찰

식립 후 1주, 4주, 8주, 12주 후의 조직학적 소견을 제작된 시편을 이용하여 광학 현미경(Olympus BX, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

(6) 주사전자현미경 표본제작 및 관찰

임플란트 정중부를 중심으로 약 10 mm 두께로 절단한 후 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde (4℃, phosphate buffer, pH 7.4)로 24시간 전고정하고 1% osmium tetroxide(OsO₄, 4℃, phosphate buffer)로 6시간 후 고정하였다.

ion coater를 사용하여 20nm 두께로 백금 도금(platinum coating)한 다음 주사전자현미경(JSM-840 A, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)으로 20 kV에서 관찰하였다.

(7) EDS(Energy Dispersive X-ray Spectroscopie) 분석

가속전압은 15Kv를 이용하였고 2000배의 배율에서 0.5μm²의 면적을 측정 하였다.

(8) 투과전자현미경 표본제작 및 관찰

임플란트와 인접한 조직을 약 1mm³ 크기로 세절 한 다음 2.5% paraformaldehyde- glutaraldehyde(4℃, phosphate buffer, pH 7.4)에 1시간 동안 전고정하고, 1% OsO₄(4℃, phosphate buffer)로 고정 하였다.

1% toluidine blue(1% borax)로 hot plate(60℃) 상에서 2분간 염색하고 광학현미경(Olympus CH30, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 이어서 조직의 미세 구조를 관찰하기 위해 초박절편(ultra-thin section)을 제작하여 copper grid에 부착시킨 다음, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현

미경(JEM 100 CX-II, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)으로 100 kV에서 관찰하였다.

3. 통계처리

본 연구의 통계 처리는 MS Windows용 SPSS version 10.0(SPSS Inc.,USA)을 이용하여 one-way ANOVA test, multiple range test(Scheffe)를 시행하였다.

Ⅲ. 실험 결과

1. 조직형태계측학적 분석

(1) 골-임플란트 접촉율

Machined, SLA, RBM 임플란트 각각 1주에서 43.04%, 44.12%, 43.59%의 골-임플란트 접촉율을 보였으며 12주로 시간이 경과함에 따라 모두 비슷하게 증가 하였다(Fig. 1, Table II).

군 모두 4주 이후 뚜렷한 증가 양상을 보였으며 각 군별 통계 분석 결과 Machined 임플란트와 RBM 임플란트에서는 1주와 8주, 12주간에 4주와 12주 간에 유의한 접촉율의 증가가 있었으며 SLA 임플란트에서는 1주와 8주,12주간에 유의한 증가가 있었다(p<0.05)(Table III, IV).

각 주에서 골 접촉율이 SLA, RBM 임플란트가 Machined 임플란트 보다 약간 높은 경향을 보였지만 통계 분석에서는 군 간의 유의한 차이는 없었다(Fig. 2).

(2) 골 면적율 (Bone Area)

골-임플란트 접촉율과 마찬가지로 기간별로 비슷하게 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3, Table V).

Table II. The mean and standard deviation of bone to implant contact(%)

	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Machined	43.04±4.29	48.87±5.06	56.37±6.49	62.55±2.43
SLA	44.12±5.33	53.20±9.46	59.70±8.92	64.43±6.02
RBM	43.59±6.44	53.48±8.39	60.92±5.52	68.62±7.05

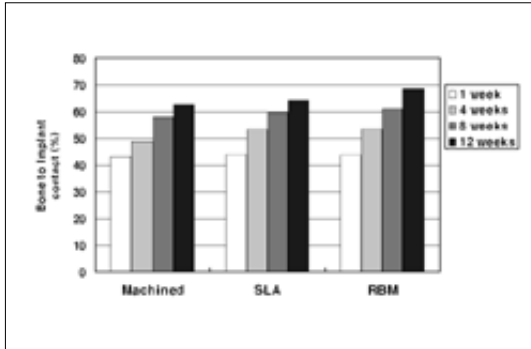


Fig. 1. The value of bone to implant contact according to surface treatment.

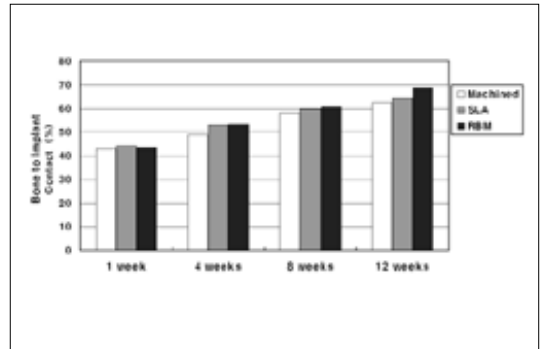


Fig. 2. The value of bone to implant contact according to periods.

Table III. Results of multiple range test for bone to implant contact(SLA)

	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks
1 week				
4 weeks				
8 weeks	*			
12 weeks	*			

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

Table IV. Results of multiple range test for bone to implant contact(RBM)

	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks
1 week				
4 weeks				
8 weeks	*			
12 weeks	*	*		

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

통계 분석 결과 Machined 임플란트와 SLA 임플란트에서는 1주와 4, 8, 12주, 4주와 12주, 8주와 12주 간에 유의한 증가를 보였고 RBM 임플란트에서는 1주와 4, 8, 12주, 4주와 8, 12주, 8주와 12주 간에 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$)(Table VI-VIII).

각 기간별 분석에서는 SLA와 RBM이 Machined 보다 골 면적율이 더 높은 경향을 보였는데 1주와 4주에서는 Machined 와 SLA 간에, 8주에서는 Machined와 SLA, RBM 간에 유의할 만한 차이를 보였다($p < 0.05$)(Fig. 4, Table IX, X).

2. EDS 분석

(1) 각 군별 EDS의 분석

EDS 분석 결과 C, O, Ca, P가 공통적으로 검출되었다. 골과 임플란트 계면의 각 주별 검출된 원소는 종류와 양이 거의 일정하였다(Fig. 5-9).

(2) Ca/P ratio의 분석

표면처리에 따른 비교에서 각 군 모두 1, 4, 8주에서 비슷한 값을 보이다가 12주에 이르면서 급격히 감소하였으며 기존골 부위는 일정한 값을 보였다(Table XI, XII, Fig. 10).

기간에 따른 통계 분석 결과에서 1, 4주에서는 각 군 모두 기존골과 유의할만한 차이가 있었고 8주에서는 SLA와 RBM 임플란트와 기존골 사이에 유의할만한 차이가 있었다($p < 0.05$). 12주에서는 모든 임플란트 군과 기존골 간에 차이가 없었다(Fig. 11, Table XIII, XIV).

3. 조직학적 소견

(1) 임플란트 표면의 주사현미경 관찰

1) Machined 임플란트

가장 매끈한 표면을 가진다. 본 실험에서는 $0.5 \mu\text{m}$ 정도의 표면 거칠기를 가지도록 제작하였다.

Table V. The mean and standard deviation of bone area(%)

	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Machined	38.42±5.19	52.60±4.62	60.67±4.49	73.69±8.09
SLA	46.87±4.26	63.71±5.07	72.34±5.06	82.09±4.31
RBM	46.13±4.47	58.67±3.01	72.05±4.50	82.24±4.53

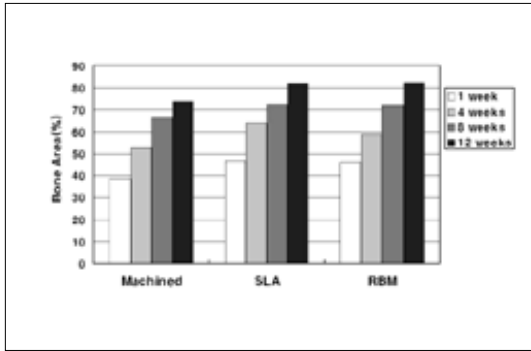


Fig. 3. The value of bone area according to surface treatment.

Table VII. Results of multiple range test for bone area(SLA)

	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks
1 week				
4 weeks	*			
8 weeks	*			
12 weeks	*	*	*	

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

Table VI. Results of multiple range test for bone area(Machined)

	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks
1 week				
4 weeks	*			
8 weeks	*			
12 weeks	*	*	*	

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

Table VIII. Results of multiple range test for bone area(RBM)

	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks
1 week				
4 weeks	*			
8 weeks	*	*		
12 weeks	*	*	*	

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

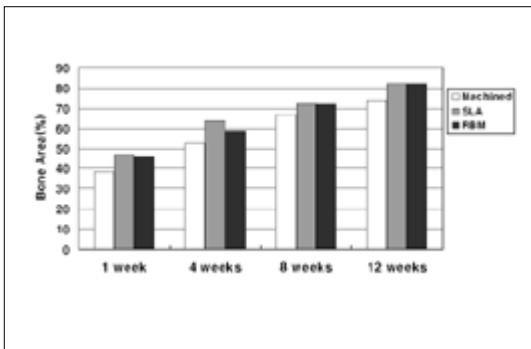


Fig 4. The value of bone area according to periods.

Table IX. Results of multiple range test for bone area(1,4 weeks)

	Machined	SLA	RBM
Machined			
SLA	*		
RBM			

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

Table X. Results of multiple range test for bone area(8 weeks)

	Machined	SLA	RBM
Machined			
SLA	*		
RBM	*	*	

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

2) SLA 임플랜트

Machined 임플랜트보다 거칠지만 RBM 보다는 균일한 거칠기와 미세한 pitting과 tubule을 가진 표면 특성을 보인다. 1.2 μm 정도의 표면 거칠기를 가지도록 제작하였다.

3) RBM 임플랜트

본 실험에서는 40-80 mesh의 수산화인회석 입자로 표면을 블라스트 하여 가장 거칠고 불규칙한 표

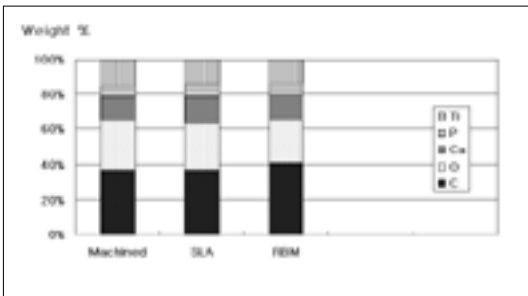


Fig. 5. The quantitative results of EDS analysis at bone-implant interface(1 week).

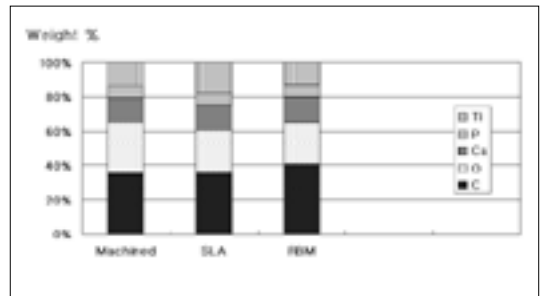


Fig. 6. The quantitative results of EDS analysis at bone-implant interface(4 weeks).

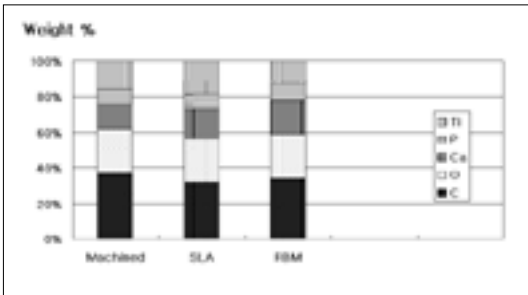


Fig. 7. The quantitative results of EDS analysis at bone-implant interface(8 weeks).

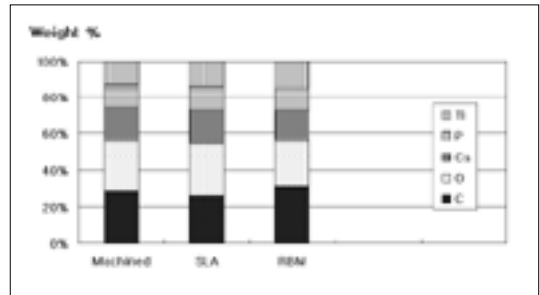


Fig. 8. The quantitative results of EDS analysis at bone-implant interface(12 weeks).

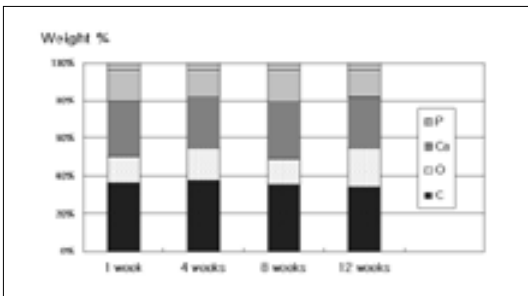


Fig. 9. The quantitative results of EDS analysis at bone-implant interface(Old bone).

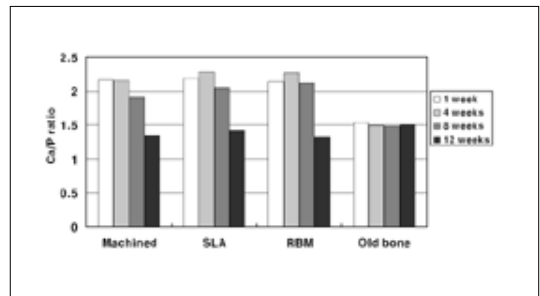


Fig. 10. Mean Ca/P ratio at bone-implant interface according to surface treatment.

Table XI. The mean and standard deviation of Ca/P ratio at bone-implant interface

	Machined	SLA	RBM	Old bone
1 week	2.17±0.24	2.19±0.29	2.14±0.24	1.55±0.24
4 weeks	2.16±0.27	2.29±0.22	2.28±0.24	1.50±0.16
8 weeks	1.92±0.30	2.06±0.29	2.12±0.15	1.49±0.26
12 weeks	1.35±0.09	1.42±0.18	1.33±0.09	1.51±0.17

Table XII. Results of multiple range test for Ca/P ratio at bone-implant interface

	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks
1 week				
4 weeks				
8 weeks				
12 weeks	*	*	*	

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

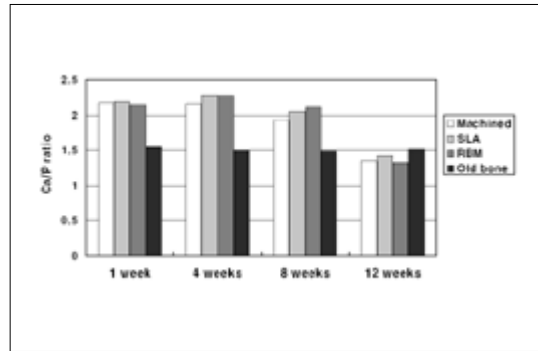


Fig 11. Mean Ca/P ratio at bone-implant interface according to periods.

Table XIII. Results of multiple range test for Ca/P ratio at bone-implant interface(1,4 weeks)

	Machined	SLA	RBM	Old bone
Machined				
SLA				
RBM				
Old bone	*	*	*	

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

Table XIV. Results of multiple range test for Ca/P ratio at bone-implant interface(8 weeks)

	Machined	SLA	RBM	Old bone
Machined				
SLA				
RBM				
Old bone		*	*	

*Denotes pair of groups significantly different at the 0.05 level.

면을 가진다. 본 실험에서는 표면 거칠기가 2.0 μm 정도가 되도록 제작하였다.

(2) Machined implant 주위의 조직학적 관찰

2-1) 1주차 광학현미경 관찰

임플란트 상부 측 표면에 인접한 골소주(bone trabeculae)가 발견되나 아직은 빈 공간이 많이 관찰되었다. 골양조직(osteoid)을 생성하는 많은 조골 세포를 관찰할 수 있었다. Masson's trichrome 염색에서 기존 골 조직의 콜라겐은 청색으로 나타났고 골의 급속 면과 접촉부위에서 골 조직은 파골세포의 재흡

수와 조골 세포의 활성화로 적색으로 염색되었다.

2-2) 1주차 주사전자현미경 관찰

1주가 경과된 Machined 임플란트의 조직상에서 골과 골수는 임플란트의 나사면에 채워져 있으나, 일부 골 파편이 관찰되었다.

2-3) 1주차 투과전자현미경 관찰

투과전자현미경상에서 임플란트와 인접해서 응고된 혈액으로 채워져 있는 조직부위에는 다량의 적혈구가 노출되어 있었다.

2-4) 4주차 광학현미경 관찰

골과 임플란트가 접해서 응고현상이 일어난 부위는 다수의 조골세포가 활성화되어 신생골로 채워지는 것을 확인하였으며 신생골과 기존골 사이에 반전선이 관찰되었다.

2-5) 4주차 주사현미경 관찰

임플란트와 골의 접촉면은 골조직의 파괴와 재흡수가 일어나는 과정으로 일부 부서진 조직의 임플란트 접촉면은 빈 공간(원호)이 관찰되었다.

2-6) 4주차 투과전자현미경 관찰

주사전자현미경상에서 빈 공간으로 관찰되는 부위에 대한 투과전자현미경상에서 이들 부위는 조골세포에서 분비되는 미성숙한 콜라겐들이 채워지기 시작하였다.

2-7) 8주차 광학현미경 관찰

8주가 경과된 조직표본에서 신생된 골조직에는 많은 수의 조골세포들이 관찰되었고, 임플란트와 접한 면에도 조골세포에 의해서 생성된 골기질이 금속 경계면과 접촉하여 나타났다.

2-8) 8주차 주사전자현미경 관찰

골기질의 재흡수 및 손상부위의 기질화가 진행되면서 8주 경과된 조직에서 파괴된 뼈의 재흡수 및 재형성이 거의 진행 되었다. Machined 임플란트에서는 드물게 섬유아세포(화살표)가 관찰되었다.

2-9) 8주차 투과전자현미경 관찰

골의 형성과정에 활성이 강한 조골세포들이 관찰되었는데 이들 세포는 콜라겐을 양성하게 합성 하였고 형성되는 방향에 따라 콜라겐 섬유(CF)가 횡단면이나 종단면으로 관찰되었다.

2-10) 12주차 광학현미경 관찰

신생골에서 콜라겐이 생성되어 축적된 곳에서는 aniline blue에 의해서 청색으로 염색되었으며, 세포의 활성이 강한 세포들은 적색으로 진하게 염색되어 있었다.

2-11) 12주차 주사전자현미경 관찰

주사전자현미경상에서도 골 기질은 임플란트의 나사선을 따라 채워져 있는 것을 볼 수 있었다.

2-12) 12주차 투과전자현미경 관찰

이 시기에 골 조직에는 이미 분비된 기질에 의해서 조골세포는 둘러싸여 있었고 골 소강이 형성되기 시작 하였으며 골 기질은 광화(화살표)되어 있었다. 또한 임플란트와 조직의 경계선 위에 직경 1.5 μm 정도 두께의 전자밀도가 강한 무정형층(EDL)이 연속적으로 형성되어 있었다.

(3) SLA implant 주위의 조직학적 관찰

3-1) 1주차 광학현미경 관찰

Machined 임플란트 관찰에서와 마찬가지로 임플란트를 골 조직에 식립 함에 따라 금속 접촉면에는 광범위하게 출혈현상이 일어나서 혈종(hematoma)이 형성된 것을 확인할 수 있다.

3-2) 1주차 주사전자현미경 관찰

임플란트 매식과정에 골조직이 일부 부서지므로 임플란트 나사선의 홈 부위에서 부서진 골 조직 파편이 일부 관찰되었다.

3-3) 1주차 투과전자현미경 관찰

혈액응고에 의한 혈종의 형성으로 인해 아직 용해되지 않은 적혈구(화살표)가 관찰되었으며 이들 주변으로 무정형 기질과 새로 형성된 콜라겐 섬유들로 채워지기 시작하였다.

3-4) 4주차 광학현미경 관찰

접촉면에 채워진 골성 조직(osteoid tissue)은 Masson's trichrome 염색에서 적색으로 관찰되었고, 조골 세포들은 분비한 기질에 의해서 간혀 있는 모습을 보였다.

3-5) 4주차 주사전자현미경 관찰

주사전자현미경상에서 임플란트를 식립 하면서 생긴 부서진 골 조직은 거의 흡수되어 관찰할 수 없었으며 금속과 접촉면이 골과 밀접하게 접촉하고 있었다.

3-6) 4주차 투과전자현미경 관찰

이 시기에 신생된 조직에는 모세혈관(CA)이 증식되어 있었으며, 활성화된 조골세포(OB)와 주변에 콜라겐 다발(CB)들이 뚜렷하게 관찰되었다.

3-7) 8주차 광학현미경 관찰

식립 후 8주가 경과된 조직 표본에서 골 조직은 임플란트의 나사 경계면을 따라 신생되어 금속면과 접촉하고 있었다. 이들 신생된 조직에서 새롭게 형성된 골 조직은 골의 단위인 하버스계(원호)를 이루고 있었다.

3-8) 8주차 주사전자현미경 관찰

임플란트의 나사선과 밀접하게 접하여 골조직이 증식되어 있었으며 골수강에는 골수가 나사면과 접촉하여 증식되어 있었다. 혈관 및 지방 세포들도 잘 관찰되었고 생성된 콜라겐 섬유(CF)가 골 조직에서 잘 발달되어 있었다.

3-9) 8주차 투과전자현미경 관찰

활성화된 조골세포의 세포질에는 세포질 전체에 걸쳐 조면소포체(RER)가 잘 발달되어 있었으며 주변에 콜라겐 섬유다발(CB)들이 산재되어 있었다.

3-10) 12주차 광학현미경 관찰

12주가 경과된 조직표본에서 골 조직은 골 내막(화살표)의 증식과 함께 골외막 부위에도 뚜렷한 증식양상을 나타냈으며, 기존 골은 청색으로 염색되어 있고, 미성숙한 골성조직(osteoid)은 적색으로 관찰되었다.

3-11) 12주차 주사전미경 관찰

저배율의 주사전자현미경상에서 이 시기의 골조직(B)은 많은 부분에서 임플란트(I)의 경계면에 밀접하게 접촉되어 있는 것처럼 보였다.

3-12) 12주차 투과전자현미경 관찰

신생된 골조직에는 모세혈관이 관찰되고 주변에 조골세포들이 산재되어 관찰되었다. 이들 조골세포는 매우 활성화된 상태로 세포질에는 조면소포체와 많은 분비과립(화살표)들로 채워져 있었다.

(4) RBM implant 주위의 조직학적 관찰

4-1) 1주차 광학현미경 관찰

RBM 임플란트를 식립 후 1주가 경과한 표본의 광학현미경상에서 임플란트의 나사 홈과 경계부위의 공간에는 출혈로 인해 형성된 혈종(H)이 많이 관찰되었다.

4-2) 1주차 주사전자현미경 관찰

주사전자현미경상에서 골 조직은 식립 시 부서진 골들의 재흡수가 진행되는 상태로 관찰되었다. 골 조직이 신생되는 부위에서 조골세포(OB)가 관찰되었고 콜라겐 미세섬유(fibril)가 증가되는 양상을 보였다.

4-3) 1주차 투과전자현미경 관찰

임플란트와 골의 접촉 부위에는 아직 재흡수 되지 않은 적혈구(RBC)와 세포 잔유물(C)들이 존재하고 있었고 이들 사이로 새로 형성된 콜라겐 다발(CB)들이 관찰되었다.

4-4) 4주차 광학현미경 관찰

일부 혈종은 흡수되지 않고 잔존하고 있었으며 인접한 나사선으로 골의 형성이 진행되고 있다. 활성화된 조골세포들이 임플란트의 접촉면을 따라 증식되어 있었다.

4-5) 4주차 주사전자현미경 관찰

이 시기에 파괴된 골 조직은 재흡수 되어 거의 관찰되지 않았고 신생된 골 조직이 금속의 접촉면을 따라 인접하여 증식하였다.

4-6) 4주차 투과전자현미경 관찰

투과전자현미경상에서 조골세포는 분비된 기질에 둘러싸여 있었으며 골 기질의 광화가 진행되는 것을 확인하였다.

4-7) 8주차 광학현미경 관찰

신생골은 나사선의 홈을 따라 증식하였으며 골조직의 기본단위인 하버스계를 형성하고 있었다.

4-8) 8주차 주사전자현미경 관찰
주사전자현미경상에서도 임플란트의 나사선의 홈은 대부분의 신생된 골조직으로 채워져 있었다.

4-9) 8주차 투과전자현미경 관찰
이 시기에는 조면세포체(RER)와 미토콘드리아(화살표)가 발달되어 있는 활성이 강한 조골세포(OB)가 잘 관찰되었고 주변에는 콜라겐 다발(CB)들이 존재하고 있었다.

4-10) 12주차 광학현미경 관찰
조직표본에서 임플란트의 나사면은 골조직이 둘러싸고 있었으며, 기존골과 신생골 사이에는 반전선(reversal line)이 뚜렷하게 관찰되었고 신생골에는 하버스케(원호)가 형성되어 있었다.

4-11) 12주차 주사전자현미경 관찰
주사전자현미경상에서 골과 금속 접촉면은 신생골이 거의 연속적으로 밀접하게 증식하여 있었다.

4-12) 12주차 투과전자현미경 관찰
골 기질을 합성 후 활성이 감소한 골세포는 골 소강 내에 갇히고 골 세관(화살표)을 형성하고 있었으며 주변에는 콜라겐 다발들이 존재하고 기질은 광화되어 있었다.

또한 골과 임플란트 접촉면에는 약 1.5 μm 두께의 무정형층이 경계선 외측에 형성되어 있었고, 신생골과 기존의 골 사이에 반전선이 확인되었다.

IV. 총괄 및 고안

임플란트의 표면 처리는 골 형성, 골 개조에 영향을 미치며 여러 연구들은 임플란트의 거친 표면이 골세포의 활동에 좋은 효과를 준다고 보고 하였다.¹⁶⁻¹⁸⁾ Bowers 등¹⁹⁾과 Martin 등²⁰⁾은 조골세포의 세포 반응 실험을 통해 불규칙적인 거친 표면을 가진 임플란트가 Machined 임플란트 보다 세포 접촉이 더 잘 되는 것으로 보고 하였고 동물과 인간의 여러 조직학적, 조직형태학적 연구들은 임플란트 표면의 거칠기와 접촉하는 골의 양 간에 긍정적인 상관관계가 있다고 보고 하였다.^{2,9,21,22)}

Larsson 등²³⁾은 표면 거칠기와 골 형성 간의 큰 상관 관계를 보고하였으며 Wennerberg 등^{13,24,25)}은 표면 거칠기가 클수록 임플란트의 표면적과 골-임플란트 접촉율이 증가하는 것은 사실이나 적당한 거칠기의 범위가 존재하며 그 크기는 약 1.0-1.5 μm 라고 보고 하였다. 본 실험에서도 SLA 임플란트 표면 처리 시 순수 티타늄에 50 μm 크기의 이산화티타늄을 사용하여 블라스트 하여 표면 거칠기(Ra)가 1.2 μm 정도가 되도록 제작하였고 RBM 임플란트 표면 처리를 위해서 40-80 mesh 내외의 수산화인회석 입자를 이용하여 표면 거칠기(Ra)가 2.0 μm 정도가 되도록 제작 하였다. 이에 반해 선반 가공 임플란트는 표면 거칠기(Ra)가 0.5 μm 정도로 다른 실험 군에 비해 매끈하게 제작 되었다.

조직형태학적 연구 결과, 본 연구에서는 각 군에서 모두 1, 4, 8, 12주로 시간이 경과 할수록 골-임플란트 접촉율과 골 면적율이 증가 하는 경향을 보였으며 그 중 골 면적율의 분석에서 식립 초기와 중기인 1주와 4주에서는 Machined와 SLA간에, 8주에서는 Machined와 SLA, RBM 간에 통계적으로 유의할 만한 차이를 보여 거친 표면에서 우수한 골 접촉 양상을 보였다.

본 연구의 EDS를 이용한 골 성분의 연구에서는 주사전자현미경 시편의 표면에서 C, O, Ca, P원소가 검출되었다. EDS에서 검출된 Ca와 P의 값을 이용하여 각 군에서 골-임플란트 계면의 신생골 부위와 기존골 부위의 Ca/P ratio를 구하였는데 Ca/P ratio의 변화는 신생골에서 성숙골로의 변화를 추측해 볼 수 있는 자료이다. 이러한 결과는 SLA, RBM 임플란트가 Machined 임플란트 보다 더 늦게 까지 활발한 골 형성 및 성숙이 일어나고 있다는 것을 의미한다.

골유착된 임플란트는 광화된 골과 완전히 접촉하고 있는 것처럼 보이나 초기세구조의 관찰에서는 골과 임플란트 사이에 비광화된 층이 관찰된다.²⁶⁻²⁸⁾

이상 본 실험의 연구 결과들은 적절한 표면 거칠기를 가진 SLA, RBM 임플란트간의 치유 양상의 차이는 구별할 수 없었으나 매끈한 Machined 임플란트 보다는 더 양호한 조직학적 결과를 보여 주었고 이전의 표면처리 임플란트들 간의 안정성을 비교한 여러 연구들의 결과를 충분히 증명한다고 사료된다.

표면 거칠기의 적절한 증가는 조골세포의 활동을 증가 시키며 골과 임플란트의 접촉과 유지를 촉진시킨다고 보고되고 있다. 본 연구에서는 가토의 경골에 Machined, SLA, RBM 임플란트를 매식하여 1, 4, 8, 12주 후 조직형태계측학적 및 조직학적으로 연구하고 EDS를 이용하여 치유 기간 별 골 성분 및 Ca/P ratio의 변화를 연구하여 골 형성의 과정을 분석하고 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 골-임플란트 접촉율의 비교에서 각 임플란트 간에 유의한 차이가 없었다.
2. 골 면적율의 비교에서 1주와 4주에서는 SLA가, 8주에서는 SLA와 RBM이 Machined 임플란트 보다 유의하게 높은 값을 보였다($p < 0.05$).
3. EDS를 이용한 골 성분의 분석에서 신생골에서는 티타늄이 특징적으로 검출되었으며 표면 처리방법이나 기간에 따라서 그 비율은 일정하였다.
4. Ca/P ratio는 표면 처리 방법에 따라서 각 군 모두 1, 4, 8주와 12주 간에 유의한 차이가 있었으며($p < 0.05$) 1, 4주에서는 각 군 모두와, 8주에서는 SLA, RBM 임플란트와 기존골 간에 유의할만한 차이가 있었다($p < 0.05$).
5. 가장 거친 표면을 가진 RBM 임플란트 표면에는 식립 시 기존 골편들이 많이 잔류되어 있었으며 각 군 모두 12주까지도 활발한 교원섬유의 합성이 진행되는 조직학적 소견을 보였다.
6. 12주 경과 시편의 투과전자현미경 관찰에서 골과 임플란트 사이의 계면에는 수십 μm 두께의 경계선이 골과 접촉하여 존재하고 약 1.5 μm 두께의 무정형층이 경계선 외측에서 관찰 되었다.

이상의 결과들은 적절히 거친 표면을 가진 SLA, RBM 임플란트가 매끈한 표면을 가진 Machined 임플란트 보다 양호한 조직형태계측학적 결과를 나타냄을 보여주며 골 형성 및 성숙이 더 늦게까지 진행되는 양상을 보인다. 또한 거친 표면을 가진 임플란트는 식립 시 기존 골편이 표면에 잔류하여 초기의 골 형성에 도움을 주는 것으로 보인다. 이상의 조직학적인 결과들을 종합해 볼 때 임플란트 시술 시 적절히 거친 표면을 가진 임플란트의 사용이 성공적인 골유착에 유리할 것으로 사료 된다.

1. Hayakawa T, Kiba H, Yasuda S, Yamamoto H, Nemoto K. A histologic and histomorphometric evaluation of two type of retrieved human titanium implants. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2002;22:164-71.
2. Lazzara RJ, Testori T, Trisi P, Porter SS, Weinstein RL. A human histologic analysis of Osseotite and machined surfaces using implants with 2 opposing surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999;19:117-29.
3. London R, Roberts F, Baker D, Rohrer M, O'Neal R. Histologic comparison of a thermal dual-etched implant surface to machined, TPS, and HA surfaces: bone contact in vivo in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:369-76.
4. Jo IH, Kim JY, Park SS, Park JS, Lim HS. The study of implant surround tissue response of mouse with osteoporosis to induct ovary resection. *J Korean Acad Prothodont* 1998;36:183-98.
5. Chehrouri B, McDonnell D, Brunette D. The effects of micromachined surfaces on formation of bone-like tissue on subcutaneous implants as accessed by radiography and computer image processing. *J Biomed Mater Res* 1997;37:139-51.
6. Kang BS, Cho IH. The histomorphologic analysis and stabilization of two implant to differ surface roughness. *J Korean academy of oral & maxillofacial implantology* 2001;1:42-69.
7. Jang KS, Kim DS. Avana The analysis of surface treatment in Avana implant. *J Korean dentist association* 2000;38:956-60.
8. Jo DH, Lim JH. The study of surface roughness and early stabilization of several implant. *J Korean acad of stomatog func*

- occ 2000;3:197-210.
9. Buser B, Schenk RK, Steinmann 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.
 10. Carsson L, Rostlund T, Albrektsson B, Albrektsson T. Removal torque for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1988;3:21-4.
 11. Degidi M, Petrone G, Iezzi G, Piattelli A. Bone contact around acid-etched implants: A histological and histomorphometrical evaluation of two human-retrieved implants. *J Oral Implantol* 2003;29:13-8.
 12. Wennerberg A, Ektessabi A, Albrektsson T, Johansson C, Andersson B. A 1-year follow-up of implants of differing surface roughness placed in rabbit bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:486-94.
 13. Wennerberg A, Hallgren C, Johansson C, Danelli S. A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughness. *Clin Oral Implant Res* 1998;9:11-9.
 14. Marinho V, Celletti R, Bracchetti G, Petrone G, Minkin C, Piattelli A. Sandblasted and acid etched dental implants: A histologic study in rats. *Int J Maxillofac Implants* 2003;18:75-81.
 15. Mueller WD, Gross U, Fritz T. Evaluation of the interface between bone and titanium surface being blasted by aluminium oxide or bioceramic particles. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:349-56.
 16. Abrahamsson I, Zitzmann N, Berglundh T, Wennerberg A, Lindhe J. Bone and soft tissue integration to titanium implants with different surface topography: An experimental study in the dog. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16:323-32.
 17. Kim YH, Koak JY, Chang IT, Wennerberg A, Heo SJ. A histomorphometric analysis of the effects of various surface treatment methods on osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:349-56.
 18. Oh TJ, Yoon J, Meraw SJ, Giannobile WV, Wang HL. Healing and osseointegration of submerged microtextured oral implants. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:643-50.
 19. Bowers K, Keller J, Randolph B, Wick D, Michaels C. Optimization of surface micro-morphology for enhanced osteoblast response in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992;7:302-10.
 20. Martin J, Schwartz Z, Hummert T. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells. *J Biomed Mater Res* 1995;29:389-401.
 21. Novaes AB, Souza S, Oliveira PT. Histomorphometric analysis of the bone-implant contact obtained with 4 different implant surface treatments placed side by side in the dog mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:377-83.
 22. Vernino A, Kohles S, Holt R Jr, Lee HM, Caudill R, Kenealy J. Dual-etched implants loaded after 1- and 2-month healing periods: A histologic comparison in baboons. *Int J Perio Rest Dent* 2002;22(4):399-407.
 23. Larsson C, Thomsen P, Lausmaa J, Rodahl M, Kasemo B, Eriksson L. Bone response to surface-modified titanium implants: Studies on electropolished implants with different oxide thickness and morphology. *Biomaterials* 1994;15:1062-74.
 24. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B. Bone tissue response to commercially

- pure titanium implants blasted with fine and coarse particles of aluminum oxide. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996;11:38-45.
25. Wennerberg A, Albrektsson T, Johansson C, Andersson B. Experimental study of turned and grit-blasted screw-shaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography. *Biomaterials* 1996;17:15-22.
26. Bjursten L, Emanuelsson L, Ericson L, Thomsen P, Lausmaa J, Mattson L, et al. A new method for ultrastructural studies of the intact tissue-metal interface. *Biomaterials* 1990;11:596-601.
27. Hansson H, Albrektsson T, Branemark P. Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants. *J Prosthet Dent* 1983;50:108-14.
28. Rocci A, Martignoni M, Burgos PM, Gottlow J, Sennerby L. Histology of retrieved immediately and early loaded oxidized implants: Light microscopic observations after 5 to 9 months of loading in the posterior mandible. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003;5:88-98.

Reprint request to:

In-Ho Cho, D.D.S.,M.S.D.,Ph.D.

Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Dankook Univ.
7-1, Shinbu-Dong, Chunan, Chungnam, 330-716, Korea
cho8511@dku.edu

ABSTRACT

ON THE BONE TISSUE REACTION TO IMPLANTS WITH DIFFERENT SURFACE TREATMENT METHODS

Yong-Jae Kim, D.D.S., M.S.D., In-Ho Cho, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Dankook University

Statement of problem: Implant surface characteristics plays an important role in clinical success and many studies have been made for improvement of success by changing surface roughness.

Purpose: Appropriate increase of surface roughness increases the activity of osteoblast and enhance contact and retention between bone and implant.

Material and method- Machined, SLA and RBM surface implants, which are the most commonly used implants were implanted into the tibia of rabbits and after 1 week, 4 weeks, 8 weeks and 12 weeks there were histologic and histomorphometric analysis and study for bone gradient and change of Ca/P ratio using EDS(Energy Dispersive X-ray Spectroscope).

Results: Comparison of bone-implant contact showed no significant difference among each implant. In comparison of bone area rates, SLA showed higher value with significant difference at 1 week and 4 weeks, and SLA and RBM at 8 weeks than Machined implant ($p < 0.05$).

In analysis of bone constituents with EDS, titanium was specifically detected in new bones and the rates were constant by surface treatment method or period. In case of Ca/P ratio, according to surface treatment method, each group showed significant difference. Lots of old bone fragments produced during implantation remained on the rough surface of RBM implant surface and each group showed histological finding with active synthesis of collagen fibers until 12 weeks.

In transmission electronic microscopic examination of sample slice after elapse of twelve weeks, tens nm of borderline (lamina limitans like dense line) was seen to contact the bone, on the interface between bone and implant.

Conclusion: SLA and RBM implant with rough surface shows better histomorphometrical result and the trend of prolonged bone formation and maturation in comparison with Machined implant. In addition, implant with rough surface seems to be helpful in early stage bone formation due to remaining of old bone fragments produced in implantation. From the results above, it is considered to be better to use implant with rough surface in implantation.

Key words : Surface roughness, Energy dispersive X-ray spectroscopy, Transmission electronic microscope