

임플란트 표면특성에 따른 생체내 반응

박지선¹, 류효숙², 임영준²

¹서울대학교 치의학대학원 치의학과, ²서울대학교 치의학대학원 치의학과 치과보철과

Effect of implant surface characteristics on in vivo response: a literature review

Ji-Sun Park¹, Hyo-Sook Ryu², Young-Jun Lim²

¹Department of Dentistry, School of Dentistry, Seoul National University

²Department of Prosthodontics and Dental Research Institute, School of Dentistry, Seoul National University

Corresponding Author : Young-Jun Lim, DDS, MSD, PhD

Department of Prosthodontics and Dental Research Institute

School of Dentistry, Seoul National University 101 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 110-749, Korea

Tel : +82-2-2072-2940 Fax : +82-2-2072-3860 E-mail : limdds@snu.ac.kr

Abstract

After invasive implant placement, an active healing process is essential for new bone formation and ultimately successful implant prostheses. Previous in vitro studies have revealed that this healing event is mediated by the surrounding cells and the adsorbed protein layer in the extracellular matrix. In particular, the compound effect of implant surface characteristics such as roughness and topography plays a major role during the initial phase of the biological response to implants. Therefore, a better understanding of in vivo response of an implant is critical for determining its biocompatibility and osseointegration. This literature review evaluates the in vivo interaction between the implant surface characteristics and the surrounding cells mediated by the adsorbed protein layer.

Key words : dental implant, surface treatment, surface characterization, in vivo response

I. 서론

임플란트는 식립과정 자체가 기존의 보철과정에 비해 침습적이며(invasive), 성공적인 임플란트 보철물로 완성되기 위해서는 신생골의 생성을 포함한 개체의 능동적인 치유과정이 필수불가결하다. 임플란트로 주로 사용되는 Titanium의 장점은 개체와 부작용 없이 골유착을 이루는 높은 생체적합성이라 할 수 있다. 따라서, 구강 내에서 보철물이 미치는 생물학적 영향의 측면은 중대한 고려대상 중 하나이다.

임플란트는 골 내로 식립되면 생체와 지속적인 상호작용을 한다. 임플란트의 성공여부는 골조직과 점막조직에 존재하는 세포들과 상호작용이 얼마나 생리적으로 조화롭게 이루어지는가에 달려있다. 이러한 상호작용을 조절하는데 결정적 역할을 담당하는 것은 세포와 세포외기질(extracellular matrix)의 부착을 매개하는 부착 단백질이 잘 알려져 있다. 이들은 세포가 어떤 장소에 자리를 잡거나 세포외 환경을 조절하려 할 때 작용하는 단백질로, 어떤 기질의 표면이 있을 때 그곳에 흡착된 부착 단백질들의 구성에 의해 세포의 행동이 결정된다. 적절한 장소에 필요한 단백질들이 존재해주어야 상처의 치유나 조직의 통합과 같은 바람직한 세포반응이 일어날 수 있다. 임플란트가 식립된 후에도 최종적으로 골유착 단계까지 도달하기 위해서는, 이러한 단백질들이 지속적으로 적절하게 정상적인 역할을 해주어야 한다.

이 종설에서는 기존의 in vivo 연구를 바탕으로 실제 생체 내 조건에서 부착 단백질을 중심으로 기질이 되는 표면과 세포의 상호작용을 고찰해보려 한다.

II. 임플란트의 생체내 반응

지금까지 in vitro 실험을 통한 연구들은 세포의 부착, 이동, 증식과 분화과정이 일어날 때 어떤 요소들에 영향을 받는가에 관한 정보들을 제공했다. 이제 그러한 사실들을 in vivo 실험에서 확인해보기 위해, 먼저 그 두 환경의 차이점을 살펴볼 필요가 있다. Cooper et al.¹은 골유착과 그 관련 현상들을 연구하는 데 세포 배양법이 가지는 한계와 적용법을 자세히 기술하였다.

In vitro에서와는 달리 생체 내에 임플란트의 식립이 이루어지면, 식립장소는 혈액으로 둘러싸이고 그로부터 신속히 단백질이 흡착되며, 그 중에는 피브리노겐이 포함되어 있다. 피브리노겐의 조골세포의 부착을 촉진하는 능력은 제한적인 것으로 생각되지만,² 혈병 형성과 혈소판 작용에 있어서는 결정적인 역할을 한다. 피브리노겐 흡착은 일반적으로 소수성 표면에서 더 많이 일어나는 것으로 관찰되었다.³

피브린 혈병 형성과 염증반응으로 이루어지는 자연적

인 상처 치유과정이 임플란트와 조직 사이의 계면에서도 일어난다. 임플란트가 상용되기 이전에 Wikesjö et al.⁴은 상아질 블록을 골조직 내 와동에 이식하고, 10 분, 1, 6 시간, 1, 3, 7 일 후까지의 치유과정을 관찰한 바 있다. 계면의 관찰을 위해 광학 현미경과 투사 전자현미경을 사용하였다. 가장 초기의 부착은 거의 원래 상태에 가까운 상아질 표면에서 이루어지는데, 이는 육아조직성 침착물에 의해 매개된다. 1 시간과 6 시간 후, 침착된 백혈구 주변과 상아질 표면에서 피브린이 형성되면서 세포 간 기질은 점차 잘 조직되어 간다. 계면 전체에 걸쳐서 다형핵백혈구(polymorphonuclear leukocytes)들이 관찰된다. 적혈구들은 1 일째부터 분해가 진행되고 있었고 다형핵백혈구들이 상아질 주변에 널리 퍼져있었다. 3 일째에는 피브린 혈병의 성숙이 더욱 진행되었고, 대식세포가 상아질 표면에서 관찰되었으며, 섬유아세포도 확인할 수 있었다. 7 일이 된 표본에서는 염증세포는 사라지고 세포가 풍부한 결합조직영역과 다양한 단계의 분해 상태에 있는 피브린 혈병이 있는 영역이 관찰되었다. 이러한 결과는 상아질에 결합조직의 부착이 일어나려면, 먼저 혈장 단백질이 표면에 흡착되고 그에 이어 피브린 혈병이 생성, 성숙하는 과정을 거쳐야 함을 보여준다. Masuda T et al.⁵은 그로부터 6 년 뒤 토끼 정강이에 식립된 티타늄 임플란트에서 2, 6, 10, 28 일 후의 세포와 기질의 반응을 기술하였다. 나사형의 임플란트가 피질골과 해면골에 고정되었다. 사전에 임플란트에 만들어 놓은 빈 공간을 통해 관찰한 모든 계면 부분에서 골 형성의 증거를 찾을 수 있었다. SEM 관찰 결과, 초기반응은 피브린 혈병과 아직 느슨하게 조직된 콜라겐 기질로 이루어져 있었다. 삼출되어 나온 많은 혈구 세포들이 임플란트 표면과 접촉해 있었다. 6 일째에는 많은 혈관들이 임플란트 표면에 접촉하고 있고, 삼출되어 나와 임플란트에 직접 접촉하고 있는 혈구 세포는 거의 없는 상태로 보다 조직된 기질이 갖추어졌다. 10 일째에는 시술로 인한 상처부위가 교직골(woven bone)로 차 있었고, 나사형 임플란트의 외곽선에 근접한 상태였다. 제거된 임플란트에는 세포가 거의 부착되어 있지 않았다. 28 일째에는 형성된 기질이 안정되는 것이 명확했다. 조직계면은 기계 가공된 임플란트의 표면 특성인 무정형 기질로 이루어져 있었다. 광학현미경으로 연마면을 관찰해보니 6 일째 이후에 형태적으로 조골세포와 일치하는 표현형을 갖는 세포들이 수술부위의 경계와 임플란트 사이의 틈에서 우세하게 존재하고 있었다. 조골성 세포들은 골형성이 진행되는 곳을 따라 유골조직(osteoid)의 접합부를 형성했다. 형성된 기질은 많은 골세포를 포함한 교직골로 나타났다. 6 일째에는 수술부위로부터 멀리 떨어진 곳에서 리모델링의 증거가 관찰되었고, 28 일째에는 임플란트 표면에 인접한 골소주 부위에서 파골세포의 활동이 관찰되었다. 전체적으로 이 실험은 임플란트 표면에 빠른 속

도로 골형성이 일어난다는 것을 보여주고 있다.

즉, 임플란트가 식립 되었을 때의 환경을 in vitro 실험과 비교해보면, 우선 피브린 망상조직(network)과 그곳에 갇힌 혈액 세포로 이루어진 혈병이 계면에서 형성되어, 세포의 이동과 뒤이은 조직 형성 과정에서 scaffold로 작용한다. 둘째로 조골세포가 도착하기에 앞서서 먼저 혈소판과 백혈구 같은 전구세포들이 당도하고, 대식세포가 그 뒤를 따르며, 실험에서 주로 사용된 조골세포는 실제로 며칠이 지난 뒤에야 나타난다. 다른 세포들에서처럼 혈소판과 백혈구의 반응들도 초기에 흡착된 단백질에 의해 조절된다. 이 같은 조절 요소들은 상처 치유과정의 개시를 불러오는 분자적 신호로 작용할 수도 있다. 마찬가지로 흡착된 단백질층의 특징은 대식세포의 반응을 결정할 수도 있다.⁶ 예를 들어 물질의 표면에 부착한 단백질들이 너무 많이 변성되어 물질이 비자기(non-self)로 인식되면, 외부물질을 제거하기 위한 파괴적인 염증반응이 진행될 수도 있는데,⁷ 이것이 식립체가 골조직이 아닌 섬유성 조직으로 둘러싸이게 되는 원인으로 작용할 수도 있다. 혈소판과 염증세포들의 작용 때문에 조골세포가 임플란트 표면에 당도했을 때 만나게 되는 계면은 초기에 형성된 단백질 흡착층과는 다른 형태를 보인다.⁸

임플란트 표면에서 발생하는 염증성 연쇄 반응의 큰 특징은 백혈구 침착이 증가했다가 다시 감소하는 것이다. 특히 염증성 세포들의 반응 양상이 표면 특성에 따라 달라질 수 있으며 거친 표면에서는 단핵구(monocyte)의 부착이 증가한다는 보고가 있다.⁹ 생체 내에서는 상대적으로 평활한 기계 절삭면에 빠르고 강하게 염증성 반응을 일으키며, 이는 수술의 외상만으로 일어나는 양보다 훨씬 많았고 심지어 초기값은 구리와 같은 독성 금속에 대한 반응보다 더 크게 나타났다.¹⁰ 이 연구들에서 중요한 사항은 기계 절삭면에 대한 염증반응이 일시적인 현상이었다는 점으로 18 시간 이후로는 염증상태를 나타내는 TNF- α 의 수치가 감소하여 48 시간 후에는 거의 정상상태로 돌아갔다. 이러한 일련의 과정을 거쳐 티타늄 임플란트가 생체 골조직에 식립된 경우 단면을 관찰하였을 때, 일반적으로 기계 절삭된 티타늄 표면의 바로 위까지 골조직이 형성되는데, 티타늄 표면에서부터 골이 생성되는 것은 아니고 기존의 골조직으로부터 표면을 향해 생성되어 온다. 또한 식립체에 매우 근접하여 광화된 골 기질의 형성이 일어나기는 하나 보통 무정형 지대에 의해 구분이 가능하다.

실험 동물을 이용해 다양한 임플란트 표면의 특성에 따른 골유합의 양상을 조직표본으로 관찰하거나 torque removal test, 공명주파수분석 등을 통해 결합강도를 측정하는 것은 가장 전형적인 in vivo 연구방법이다. In vivo 실험에서는 이미 in vitro 실험을 통해 어느 정도 검증된 표면처리가 적용된 식립체를 이용하는 경우가 많은데, 주로 표면조도를 변화시키는 가공법이 실험되고 있다.

예를 들어 Jan Hall et al.은 50-200 μm 범위의 표면지형특성을 갖는 임플란트의 안정성과 골형성을 알아보기 위해 토끼를 이용한 실험을 수행하였다.¹¹ 임플란트의 각 나사산(thread)마다 상부에 각각 110 μm , 200 μm 넓이와 공히 70 μm 의 깊이를 갖는 열구(groove)를 형성함으로써(그림 1) 조골세포의 수용부를 제공하여 임플란트의 안정성을 증가시키려 하였다.

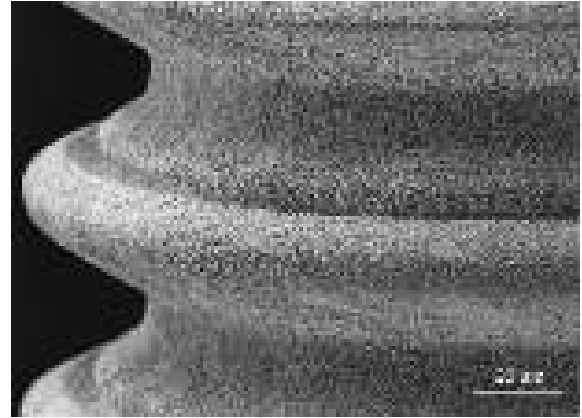


그림 1. thread마다 구가 형성된 모습(SEM 관찰)¹¹

6 주의 치유기간 후 removal torque test를 시행하고, 광학현미경으로 고정 후 절단, 연마한 조직표본을 관찰하였다. 골조직은 임플란트 주변을 둘러싸면서 잘 결합되어있었는데, 특히 열구가 형성된 부위까지 골조직이 공간을 채우고 있는 것을 볼 수 있었다(그림 2). 열구 내부에서 임플란트와 밀접해있는 골세포가 발견되기도 하였으며, 나사산에서 열구가 형성된 면이 그렇지 않은 반대편 표면보다 골결합이 더 많이 이루어지는 양상을 보였다.

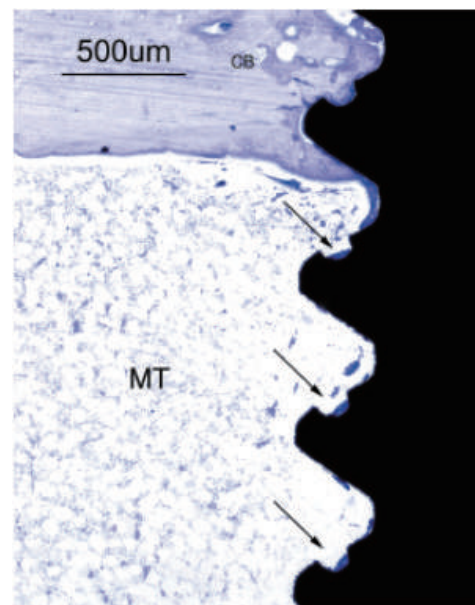


그림 2. thread 표면에 형성한 구(groove)에 골세포를 포함한 골조직이 형성되었음을 보여주는 조직표본(광학현미경 관찰)¹¹

열구의 형성에 따른 골-임플란트 접촉 비율(bone to implant contact: BIC)은 두 가지 크기 모두에서 의미 있게 증가하지 않았으나, torque removal test에서는 110 μm 너비의 구가 형성된 경우 대조군에 비해 더 강한 결합력을 보였다.

Cho et al.¹²은 HF와 HCl/H₂SO₄로 이중 산부식된 표면의 티타늄 임플란트와 기계절삭면 임플란트의 표면 지형적 특성과 removal torque를 비교하기 위해, 토끼 tibia에 식립하고 12 주 뒤 removal torque를 측정하였다. 각 토끼에 대조군과 실험군을 하나씩 식립하여 가능한 동일한 조건을 조성하였다. 그 결과 SEM을 이용한 표면 관찰 시 1-2 μm 크기의 작은 요철을 가진 것으로 나타난 이중 산부식 실험군의 평균 removal torque가 34.7 Ncm으로 가장 높게 나타났다.

Kim et al.¹³은 SLA 처리를 통해 평균 조도(Ra) 1.19 μm ,

최고 높이(Rmax) 10.53 μm 의 표면을 갖는 티타늄 임플란트를 토끼의 경골에 식립한 결과, 임플란트 나사선 표면에서 bone to implant contact(BIC)가 29% 증가한 것으로 나타났다.

양극산화된 티타늄 임플란트에 대한 in vivo 실험 역시 실행되었다. Park et al.¹⁴은 양극 산화 과정에서 가해지는 전위차에 따른 결합강도의 차이가 나타나는지 확인해보았다. grade 2 cpTi으로 만들어진 나사형 임플란트(turned surface screw type)가 대조군으로 이용되었고 실험군은 각각 190, 230, 270 V에서 양극산화처리를 거친 후 토끼의 경골에 식립하였다. 실험군의 표면을 검사한 결과가 흥미로운데, 가해진 전압이 증가함에 따라 산화막의 두께와 표면조도가 증가하였고, 표면에 형성된 공극의 크기가 증가하였다(그림 3).

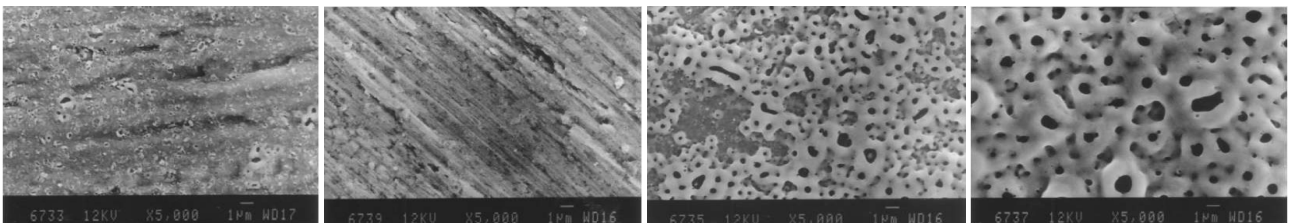


그림 3. 대조군, 190 V, 230 V, 270 V에서의 SEM 관찰결과¹⁴

4 주 후 시행한 torque removal test와 6주 후 관찰한 BIC 측정은 같은 경향성을 보였는데, 270 V > 190 V ≥ 230 V > 대조군의 순서를 보였다. BIC는 네 군이 각각 오차범위 내의 차이를 보였지만, torque removal 검사에서는 크게 세 그룹의 차이가 매우 분명하게 나타났으며 270 V의 경우 대조군의 3.5 배에 달하는 차이가 발생했다.

한편 Hallgren¹⁵은 photolithography를 이용하여 임플란트 표면을 각각 3 부위, 6 부위로 구분해 표면조도와 굴곡도에 특정한 패턴을 부여하였다. 이를 토끼의 대퇴골과 경골에 식립하고 12 주 후 확인한 결과, 조직면 관찰이나 강도측정에서 패턴을 부여하지 않은 대조군과 유의미한 차이가 관찰되지 않았다고 보고하였다. 패턴 부여에 따른 조직 반응의 효과는 in vitro에서와 마찬가지로 아직 특정한 효과가 확인된 경우를 찾기 힘들다. 이들은 2001 년에 양을 이용해 수행한 유사한 실험에서도 의미 있는 결과가 나오지 않았다고 보고한 바 있다.¹⁶

표면 조도를 갖는 임플란트의 경우, 평활한 면을 갖는 임플란트와 골-임플란트 결합강도를 비교한 많은 논문에서 화학적 결합이나 생물학적 활성, 접합면에서의 미세구조의 변화보다는 골과 임플란트의 기계적인 결합이 강도 개선에 주된 역할을 한다고 밝히고 있다. 그러나 Larsson 등¹⁷의 종설에도 확인할 수 있듯이, 표면 조도가

향상된 표면이 골반응에 미치는 영향은 앞서 세포 배양 실험들에서 살펴보았던 것처럼 단순한 원리에 의해 설명되기 힘들다. Albertsson et al.¹⁸은 당시에 실제로 사용되고 있는 임플란트들을 표면 조도에 따라 분류하여 임상적 결과를 비교하였는데, 평균 평면으로부터의 높이 차이(Sa)가 0.5-1.0 μm 정도인 최소한의 거칠기를 갖는 임플란트가 가장 긴 수명을 보였다고 보고했다. 현재 가장 많이 이용되고 있는 Sa = 1.0-2.0 μm 의 중등도의 거친면은 평활한 면이나 보다 거친 면보다 우수한 골반응을 보였으나 통계적으로 크게 의미 있는 수준은 아니었다. 표면의 작은 불규칙한 공간으로 골조직이 침투하여 형성된 기계적 결합과 골유착을 확인할 수 있었고, 추가적인 생화학적 결합을 기대할 만한 경우도 있었다. 표면조도가 증가했을 때 나타나는 부정적인 효과는 아직 분명한 인과관계를 보인 사례가 거의 없다.

III. 결 론

이 종설에서는 이전의 in vitro의 결과들을 실제 생체에 식립된 임플란트 주위에서 일어나는 현상과 연결시켜 고찰하였다. 즉, in vitro 실험과 비교했을 때, 식립 후 생체 내 환경에서는 우선 피브린 망상조직(network)과 혈병이 계면에서 형성되어, 세포의 이동과 뒤이은 조직 형성 과

정에서 scaffold로 작용한다. 둘째로 먼저 혈소판과 백혈구 같은 전구세포들을 이어 대식세포가 나타나고, 실험에서 주로 사용된 조골세포는 실제로 며칠이 지난 뒤에야 나타남을 알 수 있었다. 셋째, 흡착된 단백질은 다른 세포들에서처럼 상처 치유과정의 개시를 일으키는 분자적 신호로 작용하였다. 이와 더불어, 거칠기나 나사산 디자인 등과 같은 물리적 요소도 조골세포의 분포나 골결합에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 전통적으로 경험적 지식을 바탕으로 임상 쪽이 먼저 발전해온 치과 분야의 특성상, 임플란트 치료는 안정성이 확인되자 일단 빠른 속도로 임상 정보가 축적되고 있다. 그러나 실험적 지식이 뒷받침된 학문적 기반이 있어야 상용에 머무르지 않고 지속적인 발전이 이루어질 수 있다. 임플란트 표면에서 다양한 세포들과 물질들에 의해 조성되는 환경에 대한 철저한 이해는, 이후 임플란트 치료의 수명연장과 적용 가능한 경우의 확대에 있어 결정적 역할을 담당할 수 있을 것이다.

References

- Cooper LF, Masuda T, Yliheikkilä PK, Felton DA. Generalizations regarding the process and phenomenon of osseointegration. II. In vitro studies. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1998; 13:163-174.
- Saito T, Albelda SM, Brighton CT. Identification of integrin receptors on cultured human bone cells. *J Orthop Res*, 1994; 12:384-394.
- Rodrigues SN, Gonçalves IC, Martins MC, Barbosa MA, Ratner BD. Fibrinogen adsorption, platelet adhesion and activation on mixed hydroxyl-/methyl-terminated self-assembled monolayers. *Biomaterials*, 2006; 27:5357-5367.
- Wikesjö UM, Crigger M, Nilveus R, Selvig KA. Early healing events at the dentin-connective tissue interface: Light and transmission electron microscopy observations. *J Periodontol*, 1991; 62:5-14.
- Masuda T, Salvi GE, Offenbacher S, Felton DA, Cooper LF. Cell and matrix reactions at titanium implants in surgically prepared rat tibiae. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1997; 12:472-485.
- Thomsen P, Gretzer C. Macrophage interaction with modified material surfaces. *Curr Opin Solid State Mater Sci*, 2001; 5:163-176.
- Tengvall P. How surfaces interact with the biological environment. In: Ellingsen JE, Lyngstadaas SP eds. *Bio-implant Interface: Improving Biomaterials and Tissue Reactions*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2003, p.285.
- Siebers MC, ter Brugge PJ, Walboomers XF, Jansen JA. Integrins as linker proteins between osteoblasts and bone replacing materials: A critical review. *Biomaterials*, 2005; 26:137-146.
- Soskolne WA, Cohen S, Sennerby L, Wennerberg A, Shapira L. The effect of titanium surface roughness on the adhesion of monocytes and their secretion of TNF-alpha and PGE2. *Clin Oral Implants Res*, 2002; 13:86-93.
- Suska F, Esposito M, Gretzer C, Kalltorp M, Tengvall P, Thomsen P. IL-1a, IL-1b and TNF-a secretion during in vivo/ex vivo cellular interactions with titanium and copper. *Biomaterials*, 2003; 24:461-468.
- Hall J, Miranda-Burgos P, Sennerby L. Stimulation of directed bone growth at oxidized titanium implants by macroscopic grooves: an in vivo study. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2005; 7:S76-82.
- Cho SA, Park KT. The removal torque of titanium screw inserted in rabbit tibia treated by dual acid etching. *Biomaterials*, 2003; 24:3611-3617.
- Kim H, Choi SH, Ryu JJ, Koh SY, Park JH, Lee IS. The biocompatibility of SLA-treated titanium implants. *Biomed Mater*, 2008; 3:025011(6pp).
- Park KH, Heo SJ, Koak JY, Kim SK, Lee JB, Kim SH, Lim YJ. Osseointegration of anodized titanium implants under different current voltages: a rabbit study. *J Oral Rehabil*, 2007; 34:517-527.
- Hallgren C, Reimers H, Chakarov D, Gold J, Wennerberg A. An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining. *Biomaterials*, 2003; 24:701-710.
- Hallgren C, Reimers H, Gold J, Wennerberg A. The importance of surface texture for bone integration of screw shaped implants: an in vivo study of implants patterned by photolithography. *J Biomed Mater Res*, 2001; 57:485-496.
- Larsson C, Esposito M, Liao H, Thomsen P. The titanium bone interface in vivo. In: Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P editors. *Titanium in Medicine*. Dusseldorf: Springer Verlag, 2001, pp.588-648.

18. Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: Part 1. Review focusing on topographies and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont*, 2004; 17:536-543.