

양극산화 임플란트 표면에 적용된 골형성단백질과 혈관내피세포성장인자가 골유착에 미치는 영향: 예비연구

허중보¹ · 윤미정¹ · 정창모¹ · 신상완² · 전영찬^{1*}

¹부산대학교 치의학전문대학원 치과보철학교실, ²고려대학교 구로병원 임상치의학연구소 치과보철과

Combined effects of rhBMP-2 and rhVEGF coated onto implants on osseointegration: pilot study

Jung-Bo Huh¹, DDS, MSD, PhD, Mi-Jung Yun¹, DDS, MSD, PhD, Chang-Mo Jeong¹, DDS, MSD, PhD, Sang-Wan Shin², DDS, MSD, PhD, Young-Chan Jeon^{1*}, DDS, MSD, PhD

¹Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Pusan National University, Yangsan, Korea

²Department of Prosthodontics, Institute for Clinical Dental Research, Korea University Guro Hospital, Seoul, Korea

Purpose: The present study is aimed to evaluate the combined effect of recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2) and recombinant human vascular endothelial growth factor (rhVEGF) coated onto anodized implants on osseointegration. **Materials and methods:** Six New Zealand white rabbit were used in this study. Each animal received 4 implants that were either coated with rhBMP-2 and rhVEGF (Study group) or anodized implant (Control group) in both tibia. This was performed using a randomized split-mouth design. A total 24 implants were used. The implant stability quotient (ISQ) value using resonance frequency analyser and removal torque (RTQ) measurement were investigated at 2 and 8 weeks. The t-test was used for statistical analysis ($\alpha=0.05$). **Results:** Control and study group showed good osseointegration at 8 weeks. The ISQ and RTQ values of study group were significant compared with the control group at 8 weeks ($P<0.05$). However, No statistical significance was observed at 2 weeks ($P>0.05$). **Conclusion:** It was concluded that rhBMP-2 with rhVEGF coated onto anodized implants can induce better osseointegration at late healing period. (*J Korean Acad Prosthodont* 2013;51:82-9)

Key words: rhBMP-2; rhVEGF; Implant stability quotient; Removal torque; Osseointegration

서론

현재 골유착 임플란트는 임상적으로 폭넓게 받아들여 지고 있으며, 신뢰할만하고 안전한 치료로 알려져 있지만, 골질이 나 골의 양에 문제를 가지고 있는 환자나, 환자 자체의 치유 및 재생력이 떨어져 있는 경우에는 높은 성공률을 보장할 수 없는 한계점을 가지고 있다.¹ 최근에는 보다 짧은 치료기간의 임플란트 기술을 행하고 이를 통해 환자에게 보다 편안감을 주

려는 경향으로 인해 성장인자와 같은 생물학적인 활성 인자들을 임플란트 표면처리에 첨가 하려는 시도가 이루어지고 있다. 성장인자는 골아세포의 증식을 촉진하고 골기질의 생합성을 도움으로써 골 형성을 증진시키는 역할을 하는데 이중 Bone Morphogenetic Protein (BMP)-2, BMP-4와 BMP-7가 골전도 능력이 가장 뛰어난 성장인자로 알려져 있으며 이러한 BMPs를 이용하여 임플란트의 골유착을 증진시키려는 시도가 계속되고 있다. 2001년 Sykaras 등²은 recombinant human bone morphogenetic protein

*Corresponding Author: Young-Chan Jeon

Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Pusan National University, Beomeo-ri, Mulgeum-eup, Yangsan, 626-870, Korea

+82 55 360 5130: e-mail, jeonyc@paran.com

Article history: Received March 8, 2013 / Last Revision April 3, 2013 / Accepted April 4, 2013

© 2013 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/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*This study was supported by Clinical Research Grant, Pusan National University Dental Hospital.

(rhBMP)-2를 포함한 임플란트가 대조군에 비하여 골-임플란트 접촉률이 높은 것을 발견하였으며, 2004년에는 Sumner 등³이 rhBMP-2가 포함된 임플란트 주변으로 골이 보다 잘 증식되는 것을 발견한 바 있다. 또한 2006년 Becker 등⁴은 chromosulfuric acid 처리를 한 임플란트에 rhBMP를 적용함으로써 높은 골-임플란트 접촉률과 골질을 관찰한 바 있다. 하지만 이전 연구에서는 단순히 rhBMP-2를 임플란트 표면에 코팅하여 사용하는 것이 골유착의 증대에 큰 기여를 한다는 명확한 증거를 찾지 못했다.⁵ 반면에 BMP-2를 적용하는 것이 임플란트 주위 골 결손부위의 추가적 골이식 없이도 골재생이 가능함을 확인하였고 따라서 rhBMP-2를 코팅한 임플란트의 사용 적응증은 임플란트 주위에 골결손부를 가지고 있는 경우, 골질이 좋지 못하여 부가적인 골량의 증대가 필요한 경우에 한해 적용 가능함을 보고하였다.^{6,7} 이전 연구에서 단순히 rhBMP-2를 임플란트 표면에 코팅하여 사용하는 것이 골유착의 증대에 큰 기여를 한다는 명확한 증거를 찾지 못한 결과는 rhBMP-2가 초기에 방출이 많이 되어버리는 문제와, 최적화 된 농도를 명확하게 규명하지 못한 부분에도 원인이 있을 수 있다.⁸⁻¹¹ 따라서 우리는 서방출을 유도한 코팅방법의 개발 및 혈소판유래성장인자와의 병용 코팅을 통해 골유착의 향상을 증대하고자 하는 연구를 진행하였고 이러한 방법들이 골유착에 부가적인 효과가 있음을 입증하였다.^{12,13}

골유착을 향상시키기 위하여 다른 추가적인 성장인자를 사용하는 연구방향에서 VEGF (Vascular Endothelial Growth Factors)의 병용 사용을 고려하게 되었다. VEGF는 내피세포의 활성화를 통하여 혈관형성을 돕는 성장인자이다.¹⁴ VEGF는 혈관생성 과정에서 핵심적이고 강력한 조절 물질로써,¹⁵ 최근의 연구에서는 VEGF가 골조직 내의 혈관생성 뿐 아니라, 새롭게 생성된 혈관을 통하여 전구성 중배엽성 세포를 광화 부위로 운반하고 연골세포의 분화, 골형성세포의 분화 및 골과피세포의 유입 등을 통한 골의 발육 등 다양한 역할을 수행한다는 것이 밝혀졌다.¹⁶⁻¹⁸ Deckers 등¹⁹의 연구에서는 신생골이 형성되는 부위에서는 새로 생성된 혈관에서 발견되는 내피세포와 함께 골형성세포와 골형성전세포가 항상 수반됨을 보고하였다. 그러나 많은 연구들은 VEGF만을 단독으로 사용하는 것은 골의 치유를 돕는데 충분하지 않으며,^{20,21} VEGF는 BMP와 상호작용하여 세포의 생존시간을 늘리고 골의 형성을 이루고,^{20,22} 골형성세포의 증식 및 분화를 유도하고,²³ 골형성 세포의 이동을 돕는다고 알려져 있다.²⁴

그러나 아직까지 rhBMP-2와 rhVEGF를 병용 코팅한 임플란트를 이용하여 골유착의 향상을 평가한 연구는 없었다. 따라서 이번 연구의 목적은 양극산화 임플란트에 rhBMP-2와 rhVEGF를 코팅한 임플란트를 토끼의 경골에 식립하여 rhBMP-2와 rhVEGF를 코팅한 실험군 및 대조군과의 골 유착 효과를 resonance frequency analysis (RFA), Removable torque measurement (RTQ)를 이용하여 비교평가하고, 이를 통해 골과 임플란트 계면의 골유착을 평가하고자 하였다.

연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

1) 임플란트의 제작

길이 5.0 mm, 직경 4.0 mm의 24개의 임플란트(Cowellmedi co., Busan, Korea)를 제작하였다. 모든 나사형 임플란트는 순수 티타늄으로, 임플란트의 상부는 microthread, 하부는 보다 넓은 나사선을 가지도록 설계되었다. 모든 임플란트 표면은 양극산화 처리되었고(Cowellmedi co., Busan, Korea), 이 중 12개의 임플란트는 대조군으로 설정하고, 나머지 12개는 rhBMP-2 (Cowellmedi co., Busan, Korea)와 rhVEGF (Woongbee Meditech Co., Seoul, Korea) 코팅의 부가적인 과정을 거쳐 실험군으로 하였다. 성장인자의 코팅을 위해서 임플란트를 microthread 부분까지 두 성장인자를 동일 양으로 섞어 0.75 mg/ml 농도로 희석하고 이 용액에 3회 침지시키고 무균 환경의 동결건조기에서 -40도로 동결시킨 후 진공 상태에서 섭씨 20도를 최고온도로 하여 건조하였다. 최종적으로 직경 4 mm, 길이 5 mm의 fixture에 코팅된 총 단백질 양은 1개당 9 µg에 해당되었다. 이 시편 제작 방식 및 농도는 이전의 우리 연구들에서 얻은 정보들을 이용하였다.^{5,7}

2) 실험동물과 마취

이 연구의 동물 사육 및 관리, 수술 과정은 전남대학교 동물윤리위원회의 검증을 거쳤다(Approval No. CNU IACUC-YB-2010-10). 6마리의 성장이 완료된 수컷 New Zealand white rabbit (평균 5 kg)을 연구 대상으로 하며 실험 전 순화를 위해 2주의 사육기간을 부여 하였다. 수술을 위해서는 Zoletil50® (Vibac, Carros, France)을 0.16 ml/kg의 용량으로 근육내 주사를 시행하여 전신 마취를 하였고, 실험부위의 1:10만 epinephrine 이 포함된 lidocaine (Yu-Han Co., Gunpo, Korea)을 이용하여 수술 부위에 약 1 ml 침윤 마취하였다.

2. 연구 방법

1) 임플란트 수술

모든 수술은 완전 멸균된 동물 실험실에서 이루어졌다. 가토의 등을 바닥에 대고 사지를 고정시킨 후 소독을 하고 다리 관절부위 내측에 반원형의 절개선을 넣어 피부, 근막, 골막을 각각 분리하였다(Figs. 1A, B). 임플란트 수술 기구(Cowellmedi co., Busan, Korea)의 guide drill을 이용하여 피질골을 천공하고 직경 2.0 mm first drill, 직경 3.0 mm pilot drill 및 직경 3.2 mm final drill의 순서로 drilling한 후 countersink를 시행하였다(Fig. 1C). 가토 개체 당 좌, 우측 tibia에 2개씩 총 4개의 임플란트가 식립되었고, 임플란트 총 개수는 24개였다(Fig. 1D). 따라서 2주, 8주에서 대조군과 실험군이 각각 6개의 시편을 얻도록 설계하였다. 이때 실험군 임플란트의 경우, 코팅된 성장인자가 방출되어 이웃한 실험 구역에 영향을 미칠 수 있기 때문에 좌측 또는 우측에 각각 대조군

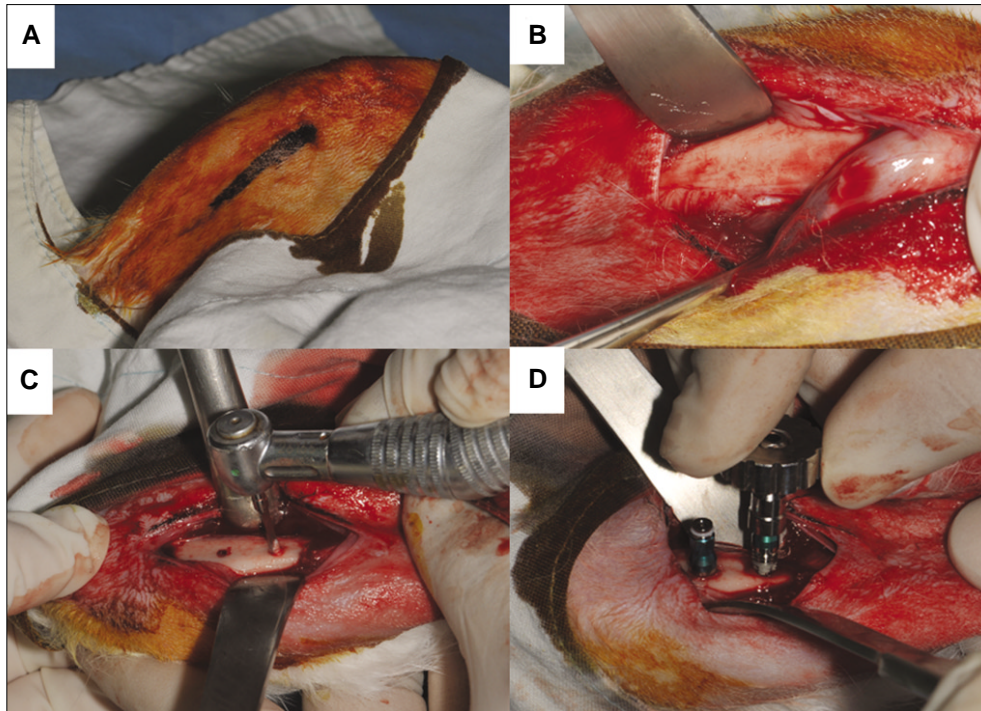


Fig. 1. Procedures of surgery in rabbit tibia. A: marking the incision area, B: exposure of tibia, C: marking the insertion portion, D: implant insertion.

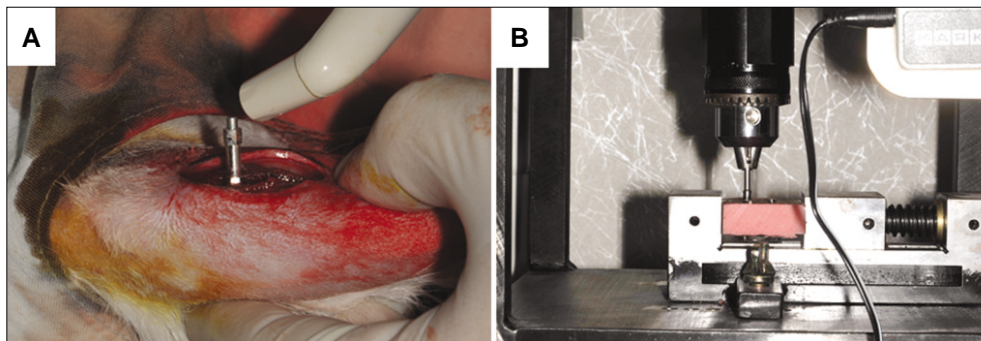


Fig. 2. The measurements of implant stability and removal torque. A: Osstell Mentor for implant stability quotient value, B: removal torque gauge MGT12 for removal torque measurement.

과 실험군을 나누어 식립하였다. 4-0 Nylon (Mersilk, Ethicon Co., Livingston, UK)를 이용하여 골막과 표피를 각각 봉합하였다.

2) 수술후 관리 및 희생

수술 직후와 수술 24시간 후 Gentamicin (Kukje Pharmacy, Sungnam, Korea)을 근육 내 주사로 주입하였다 (4 mL/kg). 수술 후 1주에 봉합사를 제거하고 수술 후 2주간은 유동식을, 이후에는 일반사료를 공급하였다. 실험 동물을 각각 그룹의 예정된 희생 시기 2, 8주에 맞추어 희생시켰다.

3) 임플란트의 안정성 및 제거회전력 평가

경골에 식립된 임플란트를 식립 즉시, 2주 및 8주 희생 후에

Osstell Mentor (Integration Diagnostic Ltd. Savedalen, Sweden)를 이용하여 임플란트 안정 지수를 Implant stability quotient (ISQ)값으로 기록하였다(Fig. 2A). 각각의 임플란트에서 5번씩 측정하고 최소치와 최대치를 제외한 3개 값의 평균을 측정하여 안정성의 변화를 비교 분석하였다. ISQ 측정 후 2주, 8주 희생 후에 회전 제거력 측정을 위해 removal torque gauge (MGT12, MARK-10 Corporation, Copiague, NY, USA)로 removable torque (RTQ) 값을 측정하였다. 이때 실험 중 removal torque gauge에 일정한 제거 회전축을 제공하기 위해 특별히 고안된 장치에 의해 고정하여 사용하였다(Fig. 2B).

3. 통계 분석

측정된 ISQ, RTQ의 평균치 및 표준편차를 구하였고, 독립표본 t-test (SPSS Ver. 15.0, Chicago, USA)을 이용하여 2주, 8주에서 대조군과 실험군의 차이를 비교분석하고, 유의수준 95%에서 통계적으로 검정하였다.

결과

1) 임플란트 안정도(ISQ value)

수술 직후의 ISQ값은 대조군과 실험군에서 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 이는 식립 시 발생할 수 있는 오차가 최소화 되었다는 증거이며 따라서 본 연구 결과에서는 각 시기별 ISQ 변화량을 측정하지 않고 각 시기별 실측 값을 비교 평가하였다. 계획된 치유기간이 지난 후 측정된 ISQ값은 대조군에서는 2, 8주에서 수술 직후 측정한 값에 비해 점진적으로 커지는 양상이 관찰되어 골 융합이 점진적으로 이루어짐을 확인하였다. 반면 실험군의 경우 2주 후에는 수술 직후에 비해 오히려 작아지는 양상을 보였고, 8주 후에는 그 값이 아주 커지는 양상이 나타났다. 구체적인 ISQ 값은 Fig. 3와 Table 1과 같다. 기간에 따른 그룹 간의 차이는 8주 후에서 실험군에서 대조군 보다 높은 값을 보였다($P < .05$).

RTQ값은 2주에서 그룹 간에 비슷한 양상을 나타냈으며 통계적 유의성을 보이지 않았다. 하지만 8주에서는 실험군이 대조군에 비해 통계적 유의성을 가지며 더 큰 양상을 나타내었다($P < .05$, Fig. 4).

고찰

임플란트 표면을 성장인자로 코팅하는 방법에 대한 많은 연구가 있었는데 그 중, 유전자 재조합을 통하여 생산된 recombinant human BMP-2 (rhBMP-2)를 양극산화 된 표면의 임플란트에 코팅 하였을 때 매우 효과적인 운반체로 작용할 수 있음이 보고되었다.^{7,25} 특히, 수직적으로 골의 양이 부족한 경우에서 골 생성 유도물질인 rhBMP-2를 코팅한 임플란트를 추가적인 골이 식재 이식없이 치조골 상방에 노출시켜 식립한 동물실험에서, rhBMP-2가 코팅 된 임플란트의 표면을 따라서 신생골이 생기면서 유의한 골 증대의 결과가 보고되었다.^{7,26} 또한 BMP와 VEGF를 이용하여 골재생을 이루고자 하는 연구가 많이 이루어져 왔는데, 몇몇 연구에서는 골막에서 유래한 세포에서 BMP-2와 VEGF를 결합하였을 때 유의하게 골형성이 증가하는 결과를 보여 주었고,²⁷ VEGF와 BMP-4와 Bone marrow-derived multipotent stem cell (BMSC)를 결합한 스캐폴드를 ectopic 부위에 이식한 연구,²⁸ VEGF와 BMP2, BMSC를 결합하여 이식한 연구²⁹에서도 좋은 결과를 보였다. Patel 등²¹의 연구에서는 VEGF와 BMP2를 동시에 이식하는 것이 하나의 성장인자만 이식하는 것 보다 쥐의 결손부(critical sized defect)에서 유의하게 증가된 골형성을 보여준다고 보고하였다. Li 등³⁰은 VEGF와 BMP-4의 동시적인 높은 농도로의 발현이 ectopic 부위에서 높은 연골성 골형성을 보임을 보고하였다.

이번 실험에서는 VEGF를 BMP와 함께 혼합하여 코팅한 경우의 효과를 식립 후 2주에서는 발견하지 못하였다. 최근의 BMP와 VEGF를 혼합하여 임플란트에 코팅한 것이 골유착에 미치는 영향을 평가한 Ramazanoglu 등³¹의 연구에서도 BMP,

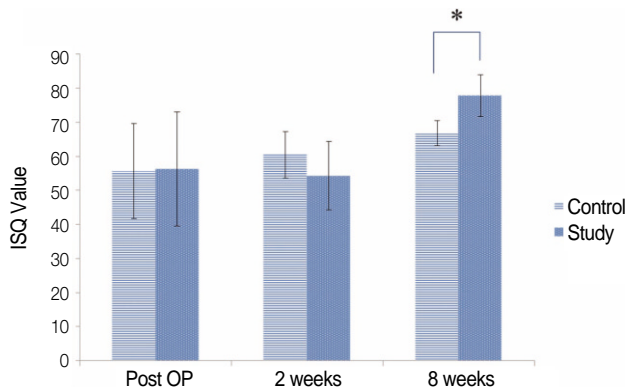


Fig. 3. Mean and standard deviation of ISQ values in each group.

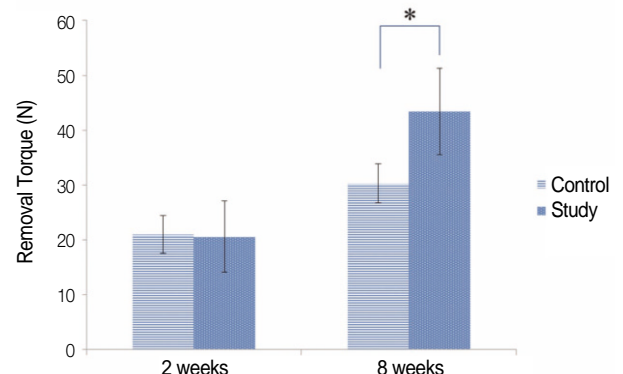


Fig. 4. Mean and standard deviation of RTQ values in each group.

Table 1. The means and SD of each group in different intervals

Group	ISQ value (mean ± SD)			RTQ value (mean ± SD)	
	Post OP	2 weeks	8 weeks	2 weeks	8 weeks
Control	55.67 ± 13.94	60.50 ± 6.83	66.83 ± 3.66	20.99 ± 3.48	30.28 ± 6.50
Study	56.34 ± 16.77	54.33 ± 10.02	77.83 ± 6.18	20.61 ± 3.59	43.42 ± 7.93

RTQ: removal torque measurements, ISQ: implant stability quotient.

VEGF만 단독으로 코팅한 임플란트에 비하여 주변의 골밀도는 높게 나왔지만, BIC는 유의한 차이를 발견하지 못한 바 있다. 그리고 이제까지의 연구는 임플란트 식립 후 초기에 대부분 코팅한 표면에서 비슷하거나 오히려 더 낮은 BIC를 보여왔다.^{32,33} 하지만 본 연구에서 8주에서는 대조군에 비해 아주 높은 안정도와 회전제거력을 보였는데 이는 두 성장인자가 초기에는 골융합에 긍정적 영향을 주지 못했으나 후반기에는 긍정적 영향을 주어 골융합을 유도하였기 때문이라 사료된다. 이러한 양상은 rhBMP-2만 코팅하여 실험한 이전 우리의 연구⁵와 동일한 결과를 보였으며 이러한 경향은 rhBMP-2가 초기에는 임플란트 주위에서 과도한 골 재형성(re-modelling) 과정이 발생함을 보인 이전 우리 연구⁶에서 그 이유를 추론할 수 있다. 즉, 2주째에는 rhBMP-2가 작용하여 과도한 골 재형성 과정을 야기하고 기존에 식립 시 얻었던 안정도가 더 떨어질 수 있다는 것이다. 이러한 rhBMP-2의 부작용을 줄여보고자 이번 연구에서 rhVEGF를 같이 코팅해 보았으나 이러한 한계를 극복하지는 못했다. 이렇게 두 성장인자를 함께 코팅한 경우가 *in vivo* 실험에서 한계를 가지는 것에 대한 다양한 다른 의견들이 있다. 성장인자의 급격한 분해로 인한 효과의 한계와 아직 성장인자의 최적농도가 표준화 되지 못한 등의 한계점이 있고,^{17,34} 임플란트 표면에 코팅 된 BMP와 VEGF가 임플란트 표면의 기능기의 변형과 구조적인 변형을 일으켜 integrin의 매개로 부착되는 골형성세포 등과 친화성이 떨어지기 때문이라는 의견도 있다.³¹ 상부에 노출 된 임플란트와는 달리 기존 골에 식립 된 임플란트의 경우에는 초기고정과 관련 된 mechanical 한 부분의 표준화가 어려운 등의 문제로 인하여, 골유착 특성에 영향을 미칠 가능성도 있다.³⁵

그리하여 임플란트에 코팅 된 성장인자의 방출을 천천히 일으킬 수 있는 방법에 대한 연구가 이루어져 왔으며,^{12,36} 최근에는 BMP, VEGF 등의 성장인자를 단백질 형태로 넣어주는 것과, 성장인자를 치유기간 동안 지속적으로 발현할 수 있는 유전자 발현 아데노 바이러스를 넣어 주어 방출속도를 성장인자 별로 조절해 준 것의 차이를 본 연구가 있었다.³⁷ 다양한 실험 디자인을 보았을 때 VEGF가 단백질 형태로 코팅되어 초기에만 작용하여 혈관생성을 돕고, BMP는 치유기간 동안 지속적으로 발현되는 형태로 코팅 되었을 때 가장 좋은 결과를 보였다. VEGF가 지속적으로 발현 된 경우는 상피조직의 발현 정도가 높았다. 실제로 과거의 많은 연구들에서 VEGF성장인자의 골형성에 관여하는 시기에 대한 증거들이 많이 축적되어 왔다. 시기적으로 VEGF의 경우, 일시적으로 강한 발현을 나타내는데 Distraction osteogenesis 모델에서 시행 5-7일 후에 가장 높은 강도를 보인다.³⁸ 그 밖의 연구들에서도 골절 모델에서 골형성이 일어나기 전 혈관의 생성이 먼저 일어남을 지적하고 있다.^{38,39} 이번 연구에서는 두 성장인자의 발현 속도를 조절하지는 못했다. 앞서 발표된 연구에서 발현 속도를 조절하기 위해 사용된 방법들은 임상에 적용하기가 어렵고 임플란트 제작 비용이 너무 많이 필요하다는 단점을 가지며 표준화가 어렵다는 문제가

있다. 이 때문에 본 연구에서는 단순한 코팅방법을 적용하여 두 성장인자가 동시 발현되게 하였을 때의 효과를 알아보고자 하였다.

본 연구는 단순히 두 성장인자를 동결건조 하여 코팅하였으며 이러한 중복 적용이 골융합에 영향이 있는지에 대한 가능성을 검증해 보고자 시행한 예비 연구이다. 시편 수가 적고 혼합 비율이 적절한지에 대해 의문을 남는다는 점에서 아쉬운 점이 있다. 차 후 동물 모델에서 BMP-2 단독 코팅 군과 조직학적인 비교 분석을 계획하고 있으며 실질적으로 골-임플란트 계면 사이의 골융합을 비교 평가해 볼 예정이다. 최적의 rhBMP-2 및 rhVEGF의 농도를 선정하고, 분자학적 방법을 통한 방출 시기의 적절한 조절을 통하여 최대한 인체에서 일어나는 치유 반응을 재현할 수 있도록 잘 디자인 된 추가적 실험이 필요할 것으로 사료된다.

결론

본 연구에 따르면 토끼의 경골에 식립 된 rhBMP-2 및 rhVEGF를 함께 코팅한 임플란트는 골유착에 긍정적인 효과를 보였다. 그러나 초기에는 임플란트 안정도가 식립 직후보다 더 떨어지는 양상을 보여 이러한 임플란트가 치유시기를 단축하는 의미의 치료 적응증에는 사용할 수 없음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Retzepi M, Lewis MP, Donos N. Effect of diabetes and metabolic control on de novo bone formation following guided bone regeneration. Clin Oral Implants Res 2010;21:71-9.
2. Sykaras N, Woody RD, Lacopino AM, Triplett RG, Nunn ME. Osseointegration of dental implants complexed with rhBMP-2: a comparative histomorphometric and radiographic evaluation. Int J Oral Maxillofac Implants 2004;19:667-78.
3. Sumner DR, Turner TM, Urban RM, Turek T, Seeherman H, Wozney JM. Locally delivered rhBMP-2 enhances bone ingrowth and gap healing in a canine model. J Orthop Res 2004;22:58-65.
4. Becker J, Kirsch A, Schwarz F, Chatzinikolaïdou M, Rothamel D, Lekovic V, Laub M, Jennissen HP. Bone apposition to titanium implants biocoated with recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). A pilot study in dogs. Clin Oral Invest 2006;10:217-24.
5. Huh JB, Ryu JJ, Kim JE, Kim DW, Kim SJ, Park YB, Kim YS, Lee SY, Lee JY, Shin SW. Effects of anodized implants coated with Escherichia coli-derived recombinant Human bone morphogenetic protein-2 on osseointegration in rabbits. Tissue Eng Regen Med 2011;8:62-8.
6. Huh JB, Kim SE, Kim HE, Kang SS, Choi KH, Jeong CM, Lee JY, Shin SW. Effects of anodized implants coated with Escherichia coli-derived rhBMP-2 in beagle dogs. Int J Oral Maxillofac Surg 2012;41:1577-84.
7. Huh JB, Park CK, Kim SE, Shim KM, Choi KH, Kim SJ, Shim JS, Shin SW. Alveolar ridge augmentation using an-

- odized implants coated with Escherichia coli-derived recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011;112:42-9.
8. Stenport VF, Johansson C, Heo SJ, Aspenberg P, Albrektsson T. Titanium implants and BMP-7 in bone: an experimental model in the rabbit. *J Mater Sci Mater Med* 2003;14:247-54.
 9. Schliephake H, Aref A, Scharnweber D, Bierbaum S, Roessler S, Sewing A. Effect of immobilized bone morphogenic protein 2 coating of titanium implants on peri-implant bone formation. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:563-9.
 10. Park J, Lutz R, Felszeghy E, Wiltfang J, Nkenke E, Neukam FW, Schlegel KA. The effect on bone regeneration of a liposomal vector to deliver BMP-2 gene to bone grafts in peri-implant bone defects. *Biomaterials* 2007;28:2772-82.
 11. Stadlinger B, Pilling E, Huhle M, Mai R, Bierbaum S, Scharnweber D, Kuhlisch E, Loukota R, Eckelt U. Evaluation of osseointegration of dental implants coated with collagen, chondroitin sulphate and BMP-4: an animal study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2008;37:54-9.
 12. Kim SE, Yun YP, Lee JY, Shim JS, Park K, Huh JB. Co-delivery of platelet-derived growth factor (PDGF-BB) and bone morphogenic protein (BMP-2) coated onto heparinized titanium for improving osteoblast function and osteointegration. *J Tissue Eng Regen Med* 2013 Jan 3.
 13. Huh JB, Lee JY, Lee KL, Kim SE, Yun MJ, Shim JS, Shin SW. Effects of the immobilization of heparin and rhPDGF-BB to titanium surfaces for the enhancement of osteoblastic functions and anti-inflammation. *J Adv Prosthodont* 2011;3:152-60.
 14. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669-76.
 15. Senger DR, Van de Water L, Brown LF, Nagy JA, Yeo KT, Yeo TK, Berse B, Jackman RW, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology. *Cancer Metastasis Rev* 1993;12:303-24.
 16. Zelzer E, Olsen BR. Multiple roles of vascular endothelial growth factor (VEGF) in skeletal development, growth, and repair. *Curr Top Dev Biol* 2005;65:169-87.
 17. Harper J, Klagsbrun M. Cartilage to bone-angiogenesis leads the way. *Nat Med* 1999;5:617-8.
 18. Rabie AB, Shum L, Chayanupatkul A. VEGF and bone formation in the glenoid fossa during forward mandibular positioning. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122:202-9.
 19. Deckers MM, Karperien M, van der Bent C, Yamashita T, Papapoulos SE, Löwik CW. Expression of vascular endothelial growth factors and their receptors during osteoblast differentiation. *Endocrinology* 2000;141:1667-74.
 20. Peng H, Wright V, Usas A, Gearhart B, Shen HC, Cummins J, Huard J. Synergistic enhancement of bone formation and healing by stem cell-expressed VEGF and bone morphogenetic protein-4. *J Clin Invest* 2002;110:751-9.
 21. Patel ZS, Young S, Tabata Y, Jansen JA, Wong ME, Mikos AG. Dual delivery of an angiogenic and an osteogenic growth factor for bone regeneration in a critical size defect model. *Bone* 2008;43:931-40.
 22. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harney JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med* 2005;9:777-94.
 23. Wang DS, Miura M, Demura H, Sato K. Anabolic effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on osteoblasts are enhanced by vascular endothelial growth factor produced by osteoblasts and by growth factors produced by endothelial cells. *Endocrinology* 1997;138:2953-62.
 24. Mayr-Wohlfart U, Waltenberger J, Hausser H, Kessler S, Günther KP, Dehio C, Puhl W, Brenner RE. Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. *Bone* 2002;30:472-7.
 25. Hall J, Sorensen RG, Wozney JM, Wikesjö UM. Bone formation at rhBMP-2-coated titanium implants in the rat ectopic model. *J Clin Periodontol* 2007;34:444-51.
 26. Wikesjö UM, Qahash M, Polimeni G, Susin C, Shanaman RH, Rohrer MD, Wozney JM, Hall J. Alveolar ridge augmentation using implants coated with recombinant human bone morphogenetic protein-2: histologic observations. *J Clin Periodontol* 2008;35:1001-10.
 27. Samee M, Kasugai S, Kondo H, Ohya K, Shimokawa H, Kuroda S. Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) transfection to human periosteal cells enhances osteoblast differentiation and bone formation. *J Pharmacol Sci* 2008;108:18-31.
 28. Huang YC, Kaigler D, Rice KG, Krebsbach PH, Mooney DJ. Combined angiogenic and osteogenic factor delivery enhances bone marrow stromal cell-driven bone regeneration. *J Bone Miner Res* 2005;20:848-57.
 29. Kanczler JM, Ginty PJ, White L, Clarke NM, Howdle SM, Shakesheff KM, Oreffo RO. The effect of the delivery of vascular endothelial growth factor and bone morphogenic protein-2 to osteoprogenitor cell populations on bone formation. *Biomaterials* 2010;31:1242-50.
 30. Li G, Corsi-Payne K, Zheng B, Usas A, Peng H, Huard J. The dose of growth factors influences the synergistic effect of vascular endothelial growth factor on bone morphogenetic protein 4-induced ectopic bone formation. *Tissue Eng Part A* 2009;15:2123-33.
 31. Ramazanoglu M, Lutz R, Ergun C, von Wilmsowky C, Nkenke E, Schlegel KA. The effect of combined delivery of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and recombinant human vascular endothelial growth factor 165 from biomimetic calcium-phosphate-coated implants on osseointegration. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:1433-9.
 32. Buser D, Broggini 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. Le Guehennec L, Goyenvalle E, Lopez-Heredia MA, Weiss P, Amourig Y, Layrolle P. Histomorphometric analysis of the osseointegration of four different implant surfaces in the femoral epiphyses of rabbits. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:1103-10.
 34. Stadlinger B, Pilling E, Huhle M, Mai R, Bierbaum S, Bernhardt R, Scharnweber D, Kuhlisch E, Hempel U, Eckelt U. Influence of extracellular matrix coatings on implant stability and osseointegration: an animal study. *J Biomed Mater Res B Appl*

- Biomater 2007;83:222-31.
35. Lioubavina-Hack N, Lang NP, Karring T. Significance of primary stability for osseointegration of dental implants. Clin Oral Implants Res 2006;17:244-50.
36. Liu Y, de Groot K, Hunziker EB. BMP-2 liberated from biomimetic implant coatings induces and sustains direct ossification in an ectopic rat model. Bone 2005;36:745-57.
37. Luo T, Zhang W, Shi B, Cheng X, Zhang Y. Enhanced bone regeneration around dental implant with bone morphogenetic protein 2 gene and vascular endothelial growth factor protein delivery. Clin Oral Implants Res 2012;23:467-73.
38. Schmid J, Wallkamm B, Hammerle CH, Gogolewski S, Lang NP. The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. A case report of a rabbit experiment. Clin Oral Implants Res 1997;8:244-8.
39. Sojo K, Sawaki Y, Hattori H, Mizutani H, Ueda M. Immunohistochemical study of vascular endothelial growth factor (VEGF) and bone morphogenetic protein-2, -4 (BMP-2, -4) on lengthened rat femurs. J Craniomaxillofac Surg 2005;33: 238-45.

양극산화 임플란트 표면에 적용된 골형성단백질과 혈관내피세포성장인자가 골유착에 미치는 영향: 예비연구

허중보¹ · 윤미정¹ · 정창모¹ · 신상완² · 전영찬^{1*}

¹부산대학교 치의학전문대학원 치과보철학교실, ²고려대학교 구로병원 임상치의학연구소 치과보철과

연구 목적: 본 연구는 양극산화 임플란트에 골형성단백질과 혈관내피세포성장인자를 코팅한 임플란트를 토끼의 경골에 식립하여 골과 임플란트 계면의 골유착 향상의 가능성을 평가하고자 시행하였다.

연구 재료 및 방법: 6마리의 토끼 양측 경골에 코팅을 하지 않은 양극 산화 임플란트(대조군)와 골형성단백질과 혈관내피세포성장인자를 코팅한 임플란트(실험군)를 각각 한쪽에 2개씩 식립하였다. 토끼는 2주, 8주에 각각 3마리씩 희생하였고 전체 식립된 임플란트는 24개이었다. 각 시기별, 그룹별 임플란트 수는 각각 6개씩이었다. 임플란트 안정 지수(resonance frequency analysis (RFA)), 회전 제거력(Removable torque measurement (RTQ))을 희생 시기에 측정하였다. 독립표본 t-test (SPSS Ver. 15.0, Chicago, USA)을 이용하여 2주, 8주에서 대조군과 실험군의 차이를 비교 분석하고, 유의수준 95%에서 통계적으로 검정하였다.

결과: 대조군과 실험군 모두 8주에서 우수한 골유착을 보였다. 특히 실험군에서 8주에 ISQ, RTQ 값 모두 대조군과 비교하여 우수한 값을 나타내었다 ($P < .05$). 하지만 2주에서는 두군 사이에 통계적 유의성을 보이지 않았다 ($P > .05$).

결론: 골형성 단백질과 혈관내피세포성장인자를 임플란트 표면에 코팅하여 식립하는 것은 치유의 후반기에 골유착을 증대하는 것으로 사료된다. (대한치과보철학회지 2013;51:82-9)

주요단어: 골형성단백질; 혈관내피세포성장인자; 임플란트 안정지수; 회전 제거력; 골유착

*교신저자: 전영찬

626-870 경상남도 양산시 물금읍 범어리 부산대학교 치의학전문대학원
치과보철학교실

055-360-5130: e-mail, jeonyc@param.com

원고접수일: 2013년 3월 8일 / 원고최종수정일: 2013년 4월 3일 / 원고채택일: 2013년
4월 4일

© 2013 대한치과보철학회

© 이 글은 크리에이티브 커먼즈 코리아 저작자표시-비영리 3.0 대한민국 라이선스에 따라
이용하실 수 있습니다.

*본 연구는 2012년도 부산대학교치과병원 임상연구비 지원으로 이루어 졌음.