

기구조작에 따른 순수 타이타늄 표면 변화와 치은 섬유아 세포 부착에 관한 연구

서성찬 · 송인택 · 임정수 · 김형섭

전북대학교 치과대학 치주과학교실
전북대학교 구강생체과학 연구소

I. 서론

임프란트 개념의 도입은 수복 치료학에 놀라운 발전을 가져왔다. 상실 치아부의 수복에 임프란트 시술로 성공적이며 이상적인 수복치료의 개념에 접근하고 있다. 이러한 인공치아매식은 저작력의 회복, 심미성 증진, 연하능력의 증진 등의 향상을 가져와 생활 환경의 개선을 도모한다.

임프란트의 사용이 보편화되면서 이에 대한 다양한 연구가 이루어지고 있으며 골융합의 개념에 대해 많은 검증이 이루어졌다. 정확한 융합상태, 임프란트와 주변 연조직과의 관계, 생물학적 폭경 등에 대해서도 연구가 이루어지고 있으며 이의 실체가 밝혀지고 있다¹⁻⁸⁾.

임프란트의 여러 가지 실패와 이의 해결책에 대한 연구도 이루어지고 있다. 생물학적인 임프란트의 실패는 연조직 없이 타이타늄 임프란트 면의 산화층과 골조직 사이의 직접적인 결합으로 정의되는 골융합에 실패하거나, 골융합 성공 이후 형성된 골융합의 소실 등이 있다. 식립 후 실패가 발생하는 기간으로 볼 때 몇 주 또는 몇 달 이내에 나타나는 조기실패와 더 이후에 나타나는 후기실패로 구분된다. 조기실패의 원인으로는 부적절한 시술 방법에 의해 나타나는 조직의 손상 등에 따른 과도한 골괴사나 임프란트의 세균오염, 수술 과정에서의 손상, 치유 기간 동안의

부적절한 유지관리, 조기 교합력 적용 등이 있다. 후기실패로는 생역학적인 평형의 손상 또는 과부하와 숙주 세균간 평형의 변화, 감염 등을 들 수 있다⁹⁻¹²⁾.

임프란트 경부에는 상피-결체조직 부착부가 존재하며 이 부위의 구조는 자연치와 유사한 구조로서 외부 환경으로부터 임프란트를 보호하고 있다. 여러 연구에서 연조직 부착부의 생물학적 구조에 대해 연구가 이루어졌으며 구조상 발생할 수 있는 합병증에 대해서도 상당 부분이 규명되어 있다^{1-3,5-8,10,11)}.

여러 연구들에서 자연치에서와 진행과정이 동일하게 임프란트 주위의 구강 연조직은 치태에 의해 염증이 유발되며 구강미생물이 임프란트 주위 구조의 파괴의 원인 요소로서 작용한다고 밝혀졌다^{2,13,14)}. 이러한 상태들은 임프란트를 둘러싸는 연조직과 주위골의 염증성 상태인 매식치 주위염으로 나타나며, 임프란트와 치조골 사이의 골융합, 임프란트 주위 치조골의 파괴 등을 야기한다^{11,15)}. 반면 동물실험 결과 임프란트 주위 구강점막이 유동적이라 할지라도 구강위생관리만 잘 이루어진다면 건강한 치은 상태를 유지할 수 있다고 입증되었다^{4,16,17)}.

따라서 임프란트의 장기적인 성공과 유지를 위해서는 이러한 임프란트에 부착하는 치석과 치태를 관리할 수 있는 철저한 유지 관리가 매우 중요하다. 구강위생의 유지 관리에는 환자 스스로 행할 수 있는 칫솔질과 치과의사에 의한 전문가적 위생관리등이

있다. 치과의사에 의한 전문가 치태 제거에는 자연 치에서 사용하고 있는 구강위생기구들을 사용해 임프란트에 적용하고 이들의 효과와 적용가능 여부에 대해 많은 보고가 있었다¹⁶⁻²³⁾.

반복적인 내원과 반복적인 기구 조작을 요구하는데 이러한 용도로 쓰이는 치태조절기구는 접촉되는 임프란트의 표면의 성질을 변화시키지 않고 흡집에 의한 거친면을 야기하지 않음으로써 해로운 효과가 없어야한다^{35,40)}. 이러한 기구 조작 후 임프란트의 표면 거칠기와 표면의 생체적합성이 변화되는데 과거의 여러 연구에서 기질의 높은 표면 자유에너지와 표면 거칠기의 증가는 치은 연상 치태의 침착을 증가시킨다고 하였고, 이때 표면 자유에너지보다 표면의 거칠기가 치태 침착에 더 우세하게 관여함을 보고하였다^{21,24)}.

기구들이 임프란트 표면에 매우 적은 양의 변화와 손상을 야기할지라도 장기간 반복적인 기구 조작은 임프란트 표면의 유의한 손상을 야기한다. 또한 치태 조절에 사용되는 여러 구강위생술식들이 자연치나 가공치 표면에 거친면을 형성해 치태 침착을 증진시킬 것이다. 사용되는 기구에 따라 임프란트 표면의 거칠기가 달라지며 이에 따른 주위 세포의 부착 양상도 달라진다. 여러 연구 결과 Rubber cup을 사용할 때 가장 평활한 표면을 보였으며 플라스틱기구와 나일론 기구를 사용할 때 타이타늄 표면에 큰 변화를 야기하지 않고 치태 조절이 가능했다. 반면 금속 기구의 사용은 표면에 흠, 흡집 등의 큰 형태 변화를 야기했으며, 타이타늄 기구 사용시도 같은 결과를 보였다^{16,21-23)}.

결론적으로 임프란트는 구강내에서 여러 외부 요인에 노출되어 있는 상태이며 이 부위에는 상피-결체조직 부착부가 존재해 이로부터 보호되고 있다. 임상에서 불가피하게 기구 조작을 행하는 경우 이러한 임프란트 연조직 접촉면에 여러 가지 영향을 미치게 되며 이때 일어날 수 있는 생체적합성에 부작용을 미칠수 있는 요인들에 대한 고려가 필요하다. 사용되는 기구에 따라 타이타늄 표면의 산화층을 다양하게 변화시켜 표면의 조성 변화와 표면 형태 변화를 야기하며 이러한 형태 변화에 따라 세포의 부

착 양상도 달라진다^{16,25-27)}.

따라서 저자는 이러한 점에 주안점을 두고 여러 기구들을 사용하여 순수 타이타늄 표면에 기구 조작을 시행한 후 사용된 기구에 따른 타이타늄 표면 형태 변화와 치은 섬유아 세포 부착 양태, 부착 세포수를 측정해 봄으로써 임프란트 주변 연조직의 재부착에 가장 적절한 기구를 검증하고자 본 연구를 시행하였다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

(1) Commercially Pure Titanium Plate

5×5×1mm, 72개

(2) 치태 조절 기구

가. Plastic curette(Implacare®, Hu-Friedy) (이하 플라스틱 큐렛)

나. Titanium curette(Titanium curette®, 3i) (이하 타이타늄 큐렛)

다. Stainless-steel curette(Gracey curette 7/8®, Hu-Friedy) (이하 이중금속 큐렛)

2. 실험 방법

(1) 시편 제작

사용되는 5×5×1mm의 순수 타이타늄 원판 72개를 제작하였다.

(2) 시편 처리

제작된 모든 시편을 SiC metallographic paper로 연마하였다. 연마 후 methylethyl ketone에 5분간 처리 후 3차 증류수로 15분간 세척하였다. 그후 30% nitric acid에서 30분간 acid passivating 시켰다. 다시 3차 증류수에서 20분간 최종 세척하였다. 실온에서 8시간 동안 건조시킨후 autoclaving(121℃, 15기압, 15분) 시켰다. 처리된 시편들을 실험1군(대조군), 실험2군(플라스틱 큐렛 처리군), 실험3군(타이타늄 큐렛

Table 1. Experimental group

Group		Sample size		
		Ra	Cell counting	SEM
Group 1	Control	4	12	2
Group 2	Plastic curette	4	12	2
Group 3	Titanium curette	4	12	2
Group 4	S-S curette	4	12	2

Ra : Average surface roughness(an arithmetic mean of the departures of the profile from the mean line)

처리군), 실험4군(이종금속 큐렛 처리군) 등의 4군으로 분류한 후 기구 조작을 시행하였다. 그후 UV light(30uW/cm² power, 254nm)에서 20분간 소독하였다^{25,27-31,41,42}.

(3) 기구 조작

먼저 처리된 각 시편들을 인상재를 이용하여 고정시켰다. 플라스틱 큐렛, 타이타늄 큐렛, 이종금속 큐렛을 준비한 후 무균 상태인 라미네이트 플로우내에서 65회의 unidirectional stroke를 사용하였다. 기구 조작 순서는 실험 오차를 균일하게 하기 위해 플라스틱 큐렛, 타이타늄 큐렛, 이종금속 큐렛, 플라스틱 큐렛, 타이타늄 큐렛, 이종금속 큐렛 순으로 기구 조작을 시행하였다²¹⁻²³.

(4) 표면 조도 측정

기구 조작까지 마친 시편 중 각 군별당 무작위로 4개씩 추출하여 표면 조도 측정기인 Form Talysurf® (Rank Taylor-Hobson, England)를 이용하여 표면 조도를 측정하였다. Ra(average surface roughness) 값을 측정하고 각 군의 평균값을 산출, 통계처리하였다²¹.

(5) 세포 배양 및 부착 세포수 측정

세포 배양은 3회 반복 시행하여 부착 세포수를 측정하였다.

DMEM media에 10% FBS, penicillin 100µg/µm, streptomycin 100µg/µm 함유된 배양액을 사용하였다. 24 Microwell의 기저면을 한천 배지로 피복시킨 후 각 시편의 기구 조작한 부위만 노출되도록 위치

시켰다. 고정된 시편에 1ml의 배양액과 10⁵ cell을 함께 넣어 준후 95% 습도, 95% 공기, 5% 이산화탄소, 37℃ 조건하에서 3일간 배양하였다. 배양 후 PBS로 부착되지 않은 세포를 제거하고 시편을 한천 배지에서 분리하였다. 시편에 0.25% trypsin-EDTA 1mM을 처리해 부착된 세포를 분리한 후 이 세포들을 trypan blue를 이용해 염색하였다. 이 분리된 세포를 Hemocytometer에서 세포수를 측정하였다^{4,18,20,31-34}.

(6) 주사전자현미경적 관찰

세포 배양후 각 군당 2개씩의 시편을 추출하였다. 이 시편을 PBS에 세척한 후 2.5% glutaraldehyde in 2M PBS 고정액에 1시간 동안 고정하였다. 다시 이 시편을 PBS에서 세척한 후 graded alcohol내에서 탈수한 후 임계점 건조기(Critical point dryer)에서 건조시켰다. Aluminum stub에 mounting한 후 ion sputting coater를 이용하여 20nm of gold palladium으로 도금한 후 주사전자현미경을 통해 750배율로 세포 부착 양상을 관찰하였다^{16,19,20,33-35}.

(7) 통계 처리

각군의 Ra값과 부착된 세포수를 ANOVA로 통계 처리한 후 사후 검정을 시행하여 각 군간의 유의성을 검증하였다. 상관관계분석을 시행하여 표면 거칠기와 부착세포수간 관계를 분석하였다.

III. 실험결과

1. 표면 조도 측정

Table 2. The value of mean surface roughness

Group	Ra(μm)
	Mean \pm SD
Group 1	0.116 \pm 0.045
Group 2	0.182 \pm 0.061
Group 3	0.470 \pm 0.155
Group 4	0.420 \pm 0.047

N = 4

Ra : Average surface roughness(an arithmetic mean of the departures of the profile from the mean line)

표면 조도 측정기에서 얻어진 각 실험군의 표면 조도 측정 결과를 평균 표면 거칠기를 의미하는 Ra 값의 평균치로 산출하였다(Table 2). 실험1군의 Ra값은 0.116 \pm 0.045으로 나타났고 실험2군의 Ra값은 0.182 \pm 0.061, 실험3군의 Ra값은 0.470 \pm 0.155였고 실험4군의 Ra값은 0.420 \pm 0.047이었다(Table 2).

Table 3에서 각 군간의 거칠기를 측정된 평균 Ra 값으로 각 군간의 차이를 비교 검증해 본 결과 실험1군을 기준으로 볼 때 실험2군은 유의한 차이를 보이지 않았고, 실험3군과 실험4군에서 유의한 차이를 보였다(P<0.01). 실험1군과 실험2군간 비교시 차이가 없었고, 실험3군과 4군을 비교시에도 차이가 없었다. 실험1, 실험2군보다 실험3, 실험4군에서 더 거친 표면을 보였다.

2. 부착 세포수 측정

부착된 세포수 측정 결과 실험1군에서는 평균 4.733 \pm 0.208 $\times 10^3$ cell, 실험2군에서는 5.933 \pm 0.174 $\times 10^3$ cell, 실험3군에서는 16.067 \pm 0.344 $\times 10^3$ cell, 실험4군에서는 15.133 \pm 0.405 $\times 10^3$ cell이 부착하였다.

Table 3. Multiple comparison of surface roughness

Group	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Group 1			*	*
Group 2			*	*
Group 3	*	*		
Group 4	*	*		

* : The mean difference is significant at the 0.01 level

Table 4. The mean value of number of attached cell

Group	Cell counting($\times 10^3$ cell)
	Mean \pm SD
Group 1	4.733 \pm 0.208
Group 2	5.933 \pm 0.174
Group 3	16.067 \pm 0.344
Group 4	15.133 \pm 0.405

N = 12

Table 5. Multiple comparison of number of attached cell

Group	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Group 1			*	*
Group 2			*	*
Group 3	*	*		
Group 4	*	*		

* : The mean difference is significant at the 0.01 level

실험4군에서는 15.133 \pm 0.405 $\times 10^3$ cell이 부착하였다(Table 4).

각 군간 평균 부착 세포수를 기준으로 차이를 비교 검증해 본 결과 실험1군을 기준으로 부착 세포수를 비교시 실험2군은 유의성 있는 차이를 보이지 않았고, 실험3군과 실험4군에서는 유의성 있는 차이를 보였다(P<0.01). 실험1군과 실험2군은 비슷하고, 실험3군과 실험4군이 비슷했다. 반면 실험1군, 실험2군보다 실험3군과 실험4군에서 많은 수의 세포가 부착했다(P<0.01)(Table 5).

3. 표면 거칠기와 부착 세포수와의 관계

표면 거칠기와 부착 세포수와의 상관관계를 분석하기 위해 상관관계분석을 시행한 결과 Pearson correlation값이 0.816이었다. 즉 표면 거칠기와 부착 세포수와의 매우 상관성이 있었다.

4. 주사전자현미경 관찰 결과

대부분이 편평형 세포이고 드물게 부착중인 방추형 세포들이 관찰되었다. 방추형 치은섬유아 세포는

몇 개의 돌기를 가지고 있으면서 세포 표면에 소수의 미세 용모성 돌기 또는 짧은 filipodia가 나와 타이타늄 표면에 부착된 상태이다. 편평형 치은섬유아 세포는 기구 조작 된 순수 타이타늄 표면에 완전히 부착된 세포들로서 표면에 납작하게 층상으로 부착된 상태이었다. 실험1군과 실험2군에서 세포가 부착되지 않은 표면이 드물게 관찰되었으며(Figure 1, 2) 실험3군과 4군에서는 모든 면에 세포가 부착된 상태였었다(Figure 3, 4). 실험군 모두에서 치은섬유아 세포가 판상으로 층을 이루어 세포 부착이 매우 잘 된 상태였었다. 전반적으로 부착 양상은 모두 고르게 잘 된 상태였었다.

IV. 고찰

현재까지 임프란트학 분야에서는 임프란트-골결합의 골융합에만 관심이 집중되어왔다. 그러나 임프란트의 연조직 부착부의 임프란트와 상피세포, 임프란트와 치은섬유아 세포의 상호작용에 대해서는 밝혀진 사실들이 미흡한 실정이다. 임프란트 상부로는 얇은 상피층과 결체 조직의 상피-결체 조직 부착부가 존재하며, 이 상피와 치은 섬유는 임프란트에 대한 부착 단위를 형성해 치조골과 외부환경을 분리하는 효과적인 biological seal을 형성한다^{2,3,5,7,13,34}). 이러한 상피-결체 조직 부착부가 파괴되면 매식치주염, 또는 임프란트의 실패가 야기된다. 따라서 이러한 질병 경로를 효과적으로 차단하기 위해 사용되는 기구들을 사용시 일어나는 타이타늄 표면의 변화와 치은섬유아 세포의 부착에 대해 살펴보았다.

먼저 기구 조작에 따른 표면 거칠기의 변화를 살펴보면, 평균 거칠기를 의미하는 Ra 수치로 볼 때 대조군과 플라스틱 큐렛 처리군을 비교시 플라스틱 큐렛 처리군이 약간 더 거칠었으며 부착된 세포수도 많았으나 유의성은 없었다($P < 0.01$). 타이타늄 큐렛 처리군과 금속 큐렛 처리군을 비교시 타이타늄 큐렛 처리군이 더 거칠었으며, 부착된 세포수도 많았으나 유의성은 없었다($P < 0.01$). 표면 거칠기는 타이타늄 큐렛이 가장 크고 금속 큐렛, 플라스틱 큐렛, 대조군 순이었다.

과거의 위생관리에 사용되는 여러 기구들에 따라 임프란트 표면 변화에 대해 검증이 이루어져 있다. 먼저 Orton 등¹⁷⁾은 임프란트 면에 플라스틱 큐렛 사용후 rubber cup과 fine abrasive polishing paste의 사용을 추천하였으며 지대치 위생관리를 위해 soft tooth brush, nylon coated interdental brush, end tuft brush, floss 등의 기구 사용을 추천하였다. Krut 등³⁶⁾은 비금속 기구, teflon을 피복시킨 기구, 임프란트와 동종 금속 기구의 사용을 추천하였다. Ruhling 등³⁷⁾은 sonic ultrasonic scaler에 teflon이 피복된 tip 사용시 임프란트의 치태 조절에 유용하였다고 보고하였다. Raply 등²³⁾은 금속기구와 초음파 기구에 의한 임프란트 면의 현저한 변화를 보였고 플라스틱과 nylon기구의 처치는 타이타늄 표면에 큰 형태 변화를 일으키지 않았다고 보고하였다. McCollum 등¹⁶⁾은 pumice와 rubber cup은 작은 소용돌이 형태의 표면 변화를 야기하였고 plastic scaler는 표면에 약간의 수직적인 미세 홈집을 형성하며, air powder abrasive는 실험면에 약간의 소와를 형성하였다고 보고하였다. Matarasso 등²¹⁾은 이중금속 큐렛이나 ultrasonic scaler가 표면에 거친면을 형성하였고 teflon이나 플라스틱 큐렛, plastic tip ultrasonic scaler등은 표면에 변화가 거의 없었으며 abrasive rubber cup은 대조군에 비해 훨씬 부드러운 표면을 보고하였다. 그리고 특히 이중금속 기구를 사용해 타이타늄 표면을 처치한 경우 표면에 홈과 거친면등을 형성해 치태 축적을 증가시킨다고 보고하였다.

이러한 연구 보고들에서 plastic 또는 nylon 기구가 타이타늄 표면에 큰 변화를 주지않고 사용되었으며, 반면 금속 기구는 표면에 큰 홈을 형성했고 타이타늄 기구도 표면 형태의 변화를 가져옴이 밝혀졌다. 본 실험 결과에서도 플라스틱 큐렛으로 처리시 임프란트 표면에 큰 손상을 주지 않고 기구 조작이 가능하였다. 반면 금속 큐렛 처리시에는 기구 조작 효과는 뛰어날 것으로 보이나 타이타늄 표면에 큰 형태 변화를 야기하였다.

기구 조작후 표면 형태뿐만 아니라 결체 조직 부착의 중요 요소인 치은 섬유아 세포의 부착 양태를 주사전자현미경을 이용해 관찰해 본 결과 부착된 세포

형태는 매우 균일하였다. 대부분 편평형 세포들이었으며 소수의 방추형 세포들이 관찰되었다. 이러한 부착 형태는 편평형 치은섬유아 세포는 이미 부착이 된 세포들이며, 방추형 세포들은 부착중인 세포들이다. 본 연구에서는 다른 영향을 배제하고 세포 부착 형태만을 관찰한 결과 실험군 모두에서 균일하고 전형적인 세포 모양을 관찰하였다. 전반적으로 세포 형태가 균일하고 세포의 형태 변이가 없는 점으로 보아 기구 처리에 의한 순수 타이타늄 표면의 형태 변화가 세포의 부착에 영향을 미치지 않는 것이다. 세포의 형태가 대조군과 비교시 모든 군에서 동일한 부착 양태를 보이는 점으로 미루어 세포 독성이 없는 것으로 보이며 이것은 기구 조작 후에도 노출되는 타이타늄 면이 생체적합성 재료인 타이타늄이었기 때문이다.

본 실험에서는 기구 조작시 발생할 수 있는 문제로 표면 거칠기의 증가외에 산화층의 변화가 일어날 수 있다. 산화층은 재료의 생체 적합성을 제공하므로 임플란트 성공의 필수 요소이다. 여러 조직학적 관찰을 통해 타이타늄 임플란트의 우수한 적합성과 타이타늄 표면과 주위골 사이의 긴밀한 접촉이 밝혀져 있다³⁸⁾. 타이타늄 임플란트 면에 금속 기구를 사용한 경우 타이타늄 표면의 산화층에 이중이온이 침투하고 임플란트 면의 생체 적합성이 감소된다고 밝혀져 있다^{25,27)}. Fox와 Dmytryk 등^{19,33)}의 순수 타이타늄 표면에 여러 가지 기구 조작을 시행한 후 세포 부착을 비교한 연구에서도 이중금속 큐렛으로 처리한 시편보다 타이타늄 큐렛으로 처리한 시편에 세포 부착이 더 많았음을 보고했다. 반면 Kuempel 등²⁰⁾은 이중금속 큐렛을 사용한 경우 이중금속 큐렛에 더 많은 세포 부착을 보고했으나 통계적 유의성은 없었다. Fox와 Dmytryk 등^{19,33)}은 이중금속 큐렛으로 처리시 타이타늄 표면에 산화층 파괴와 화학 조성 변화, 부식등을 야기해 심각한 세포 부착 장애를 야기한다고 지적하였다. 이중금속 큐렛을 사용한 경우 순수 타이타늄 표면을 변화시키고 오염시키며 이로 인해 산화층의 변화와 표면 부식물의 증가등이 나타나게 된다. 이러한 현상은 순수 타이타늄과 타이타늄과 같은 동종금속이 접촉할 때보다 순수 타이타늄과 금속

큐렛이 접촉시 보다 크다고 보고되었다²⁷⁾.

본 연구 결과에서는 이중금속 큐렛보다 타이타늄 큐렛에 더 거칠었으며 부착 세포수도 많았다. 따라서 이 결과는 유의성 있는 차이는 아니었으므로 이중금속 큐렛으로 처리시 산화층의 변화를 초래해 세포 부착이 적었다고 해석할 수는 없었다. 그러나 이런 경향으로 볼 때 이중금속 기구처리시보다 동종금속 기구로 처리시 순수 타이타늄 표면의 생체 적합성의 변화가 더 적었다라고 해석할 수는 있었다. 플라스틱 큐렛 처리시 부착 세포는 금속 큐렛보다 매우 적었지만 표면 형태 변화는 가장 적었다.

이상적인 표면 거칠기는 초기 세포 부착시에 큰 영향을 미치며 세포에 따른 표면 부착시 상피 세포는 평활한 표면보다 grooved surface에 많이 부착한다. 그리고 상피세포는 타이타늄 임플란트 표면에 반교소체 부착을 형성한다. 하부의 결체 조직 부착부에는 치은섬유아 세포가 주로 관여를 하며, 임플란트와 골 계면 부위에서는 조골 세포가 관여하는데 조골 세포는 표면 거칠기에 민감해 타이타늄 표면 거칠기가 증가할수록 부착도 증가한다. 치은섬유아 세포 또한 표면 거칠기에 민감하게 영향을 받는다⁴⁰⁾. 치은섬유아 세포는 세포 배양이 쉽고 재현성이 높다. 이 세포의 부착과 증식은 재료에 매우 민감하므로 이를 이용해 물질의 생리적 화학적 적합성에 대한 지표로 사용하였다. 이 연구에서는 이러한 특성과 결체조직 재생에 중요한 역할을 하는 점에 주안점을 두고 치은섬유아 세포의 부착을 관찰하여 기구 처리에 따른 생체 적합성에 대한 검증을 하였다.

먼저 세포 부착과 표면 거칠기 사이 상관관계를 분석해 본 결과 강한 상관성이 있었다(Pearson correlation = 0.816). 즉 이 결과는 표면이 거칠수록 부착 세포수가 많았다는 사실을 의미한다. 따라서 가장 거친 타이타늄 큐렛 처리군에서 부착 세포수가 가장 많았으며 대조군에서 가장 적었다. 이 결과로 볼 때 금속 기구를 사용할 때 임플란트 연조직부의 세포 재부착에는 플라스틱 큐렛 처리시보다 더 좋은 환경을 형성한다. 따라서 임플란트 유지 관리에 타이타늄 큐렛의 사용이 가장 적절할 것으로 보이나 이러한 견고한 금속 기구들을 사용할 때 표면의 거칠기

가 매우 증가한다¹⁶⁾. 이에 대해 과거 많은 연구자들도 임프란트의 유지관리에는 타이타늄 표면 형태 변화가 가장 적으며 산화층 손상이 가장 적은 것으로 입증된 플라스틱 큐렛의 사용이 가장 적절하며 이의 사용을 권하고 있다. 반면 철저한 기구 조작이 요구되는 경우 플라스틱 큐렛 보다는 치태와 치석 제거 효과가 뛰어난 금속 큐렛을 사용하는 것이 보다 더 적절할 것이다. 특히 Kuempel 등²⁰⁾은 이중금속 기구를 사용한 경우 임프란트 표면과 숙주 조직간의 분자 교류 변화가 야기되어 유지 관리시 상피-결체 조직의 재부착을 방해하고 산화층을 변화시켜 치태 축적을 야기한다고 많은 연구자들이 입증하였다. 따라서 금속기구를 사용해야하는 경우에는 이중금속 기구보다는 임프란트와 동종인 타이타늄 기구를 사용할 것을 고려해야 할 것이다.

여러 실험들에서 임프란트의 구강위생관리에 사용되는 기구와 재료들은 다양한 위생효과와 유해 효과가 있다고 입증된 상태이다. 클로로헥시딘 양치는 유해효과가 없으나 청결 효과가 적다. 여러 연구들의 결과에서 플라스틱 기구의 사용이 평활한 타이타늄 임프란트에 가장 적은 유해 효과를 내면서 가장 청결 효과가 좋았다고 보고되었다^{21,32)}. 따라서 임프란트 관리에 이를 보조적으로 사용할 경우 효과적일 것이라 사료된다.

V. 결론

임프란트의 유지에는 골융합 뿐만 아니라 상부 연조직 부위의 상피와 결체 조직 부착 또한 중요하다. 이에 본 연구에서는 임프란트 주변 연조직 재생에 좋은 환경을 제공할 수 있는 표면 형태를 알아보기 위해, 기구 조작 후 발생하는 순수 타이타늄 표면의 형태 변화와 치은 섬유아 세포를 이용한 세포 부착 양상을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 플라스틱 큐렛을 사용하여 기구 조작한 군에서는 표면 거칠기는 대조군과 유의한 차이가 없었다. 또한 부착 세포수 또한 유의한 차이가 없었다. 플라스틱 큐렛은 타이타늄 표면에 큰

형태 변화를 일으키지 않았다.

2. 타이타늄 큐렛을 처리한 군에서 표면 거칠기는 대조군과 비교시 매우 유의한 차이가 있었으며 부착 세포수 또한 유의하게 많았다 ($P < 0.01$).
3. 이중금속 큐렛 처리군은 표면 거칠기가 대조군과 매우 유의한 차이가 있었으며 부착 세포수 또한 유의하게 많았다 ($P < 0.01$). 타이타늄 큐렛 처리군과 비교해 볼 때 형태 변화와 부착 세포수에서 유사함을 보였다.
4. 표면 거칠기와 부착 세포수 간 상관관계분석시 매우 상관성이 있었다 (Pearson correlation : 0.816).

이상 임프란트의 정기적인 구강위생관리에 사용 가능한 기구를 사용하여 각 기구를 사용할 때의 타이타늄 표면의 형태 변화와 치은 섬유아 세포 부착에 관해 살펴 보았다. 본 연구 결과 손상된 상피 결체 조직 부착부 재생에는 견고한 금속 기구의 사용이 더 좋은 결과를 보였다. 이러한 연구 결과와 과거 기구 조작에 관한 연구들을 고려해 볼 때 정기적이고 반복적인 구강위생관리시에는 표면 형태 변화가 적다고 입증된 플라스틱 큐렛의 사용이 적절하며, 매식치 주위염과 같이 일시적이며 철저한 기구 조작이 요구되는 경우에는 표면 형태 변화가 크지만 치태와 치석 제거 효과가 뛰어난 타이타늄 큐렛의 사용이 적절할 것으로 사료된다.

기구 조작시 더 거친 표면을 만드는 기구를 사용할 경우 임프란트 면에 더 좋은 세포 부착 환경을 만들 수 있지만 반면 표면이 거칠수록 치태 침착의 기회 또한 증가하게 된다. 실제 임상에서 임프란트 경부에 기구 조작시 이러한 복합적인 상황을 고려해야 할 것이다.

VI. 참고문헌

1. Abrahamsson, I., Berglundh, T., Wennström, J., and Lindhe, J. : The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems, a compara-

- tive study in the dog. *Clin. Oral. Impl. Res.*, 7 : 212-219, 1996.
2. Adell, J., Lekholm, U., Rockler, B., Lindhe, J., Branemark, I., Eriksson, B., and Sbordone, L. : Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures. (I) A 3-year longitudinal prospective study. *Int. J. Oral. Maxillofac. surg.*, 15 : 39-52, 1986.
3. Berglundh, T., and Lindhe, J. : Dimension of the peri-implant mucosa-biological width revisited. *J. Clin. Periodontol.*, 23 : 971-973, 1996.
4. Berglundh, T., and Lindhe, J. : The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *J. Clin. Periodontol.*, 21 : 189-193, 1994.
5. Donley, T.G., and Gillette, W.B. : Titanium endosseous implant-soft tissue interface-a literature review. *J. Periodontol.*, 62 : 153-160, 1991.
6. Hämmerle C.H.F., Brägger, U., Brüggin, W., and Lang, N.P. : The effect of subcrestal placement of the polished surface of ITI implants on marginal soft and hard tissues. *Clin. Oral. Impl. Res.*, 7 : 111-119, 1996.
7. Lindhe, J., and Berglundh, T. : The peri-implant mucosa. *Text book of clinical periodontology.*, 3rd editions ch. 29 : 862-872.
8. Meffert, R.M., Langer, B., and Fritz, M.E. : Dental implants-a review. *J. Periodontol.*, 63 : 859-870, 1992.
9. Isidor, F. : Loss of osseointegration caused by occlusal load of oral implants-a clinical and radiographic study in monkeys. *Clin. Oral. Impl. Res.*, 7 : 143-152, 1996.
10. Ong, E.S., Newman, H.N., Wilson, M., and Bulman, J.S. : The occurrence of periodontitis-related microorganisms in relation to titanium implants. *J. Periodontol.*, 63 : 200-205, 1992.
11. Rühling, J.S., Ohlenbusch, J.K., and Albers, H.K. : Progressive peri-implantitis. Incidence and prediction of peri-implant attachment loss. *Clin. Oral. Impl. Res.*, 7 : 133-142, 1996.
12. Tonetti, M.S., and Schmid, J. : Pathogenesis of implant failures. *Periodontology* 2000., 4 : 127-138, 1994.
13. Lekholm, U., Adell, J., Lindhe, J., Branemark, I., Eriksson, B., Rockler, B., Lindvall, M., and Yoneyama, T. : Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures. (II) a cross-sectional retrospective study. *Int. J. Oral. Maxillofac. surg.*, 15 : 53-61, 1986.
14. Newman, M., and Flemmig, T. : Periodontal considerations of implants and implant associated microbiota. *J. Dent. Ed.*, 52 : 737-743.
15. Albrektsson, T., and Isidor, F. : Consensus report of session IV. *Proceeding of the 1st European Workshop on Periodontology.*, 365-369.
16. McCollum, J., O'Neal, R.B., Brennan, W.A., Van Dyke, T.E., and Horner, J.A. : The effect of titanium implant abutment surface irregularities on plaque accumulation in vivo. *J. Periodontol.*, 63 : 802-805, 1992.
17. Orton, G.S., Steele, D.L., and Wolinsky, L.E. : The dental professional's role in monitoring and maintenance of tissue-integrated prostheses. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 4 : 305-310, 1989.
18. Augthun, M., Tinschert, J., and Huber, A. : In vitro studies on the effect of cleaning methods on different implant surfaces. *J. Periodontol.*, 69 : 857-864, 1998.
19. Fox, S.C., Moriarty, J.D., and Kusy, R.P. : The Effects of scaling a titanium implant surface with metal and plastic instruments: An in vitro study. *J. Periodontol.*, 61 : 485-490, 1990.
20. Kuempel, D.R., Johnson, G.K., Zaharias, R.S., and Keller, J.C. : The effects of scaling procedures on epithelial cell growth on titanium surfaces. *J. Periodontol.*, 66 : 228-234, 1995.

21. Matarasso, S., Quaremba, G., Coraggio, F., Vaia, E., Cafiero, C., and Lang, N.P., : Maintenance of implants:an in vitro study of titanium implant surface modifications subsequent to the application of different prophylaxis procedures. *Clin. Oral, Impl. Res.*, 7 : 64-72, 1996.
22. Mengel, R., Buns, C.E., Mengel, C., and Jacoby, L.F. : An in vitro study of the treatment of implant surfaces with different instruments. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 13 : 91-96, 1998.
23. Rapley, J.W., Swan, R.H., Hallmon, W.W., and Mills, M.P. : The surface characteristics produced by varios oral hygiene instruments and materials on titanium implant abutments. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 5 : 47-52, 1990.
24. Quirynen, M., Marechal, M., Busscher, H.J., Weerkamp, A.H., Darius, P.L., and van Steenberghe, D. : The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation.-an in vivo study in man. *J. Clin. Periodontol.*, 17 : 138-144, 1990.
25. Kaesmo, B. : Biocompatibility of titanium implants-surface science aspects. *J. Prosthetic. dent.*, 49 : 832-837, 1983.
26. Olefjord, I., Hansson, S., and Eng, L., : Surface analysis of four dental implant systems. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 8 : 32-40, 1993.
27. Parr, G.R., Gardner, L.K., and Toth, R.W., : Titanium : The mystery metal of implant dentistry dental materials aspects. *J. Prosthetic Dent.*, 54 : 410-414, 1985.
28. Binon, P.P., Weir, D.J., and Marshall, S.J. : Surface analysis of an original Branemark implant and three related clones. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 7 : 168-175, 1992.
29. Block, C.M., Mayo, J.A., and Evans, G.H. : Effects of the Nd:YAG dental laser on plasma-sprayed and hydroxyapatite-coated titanium dental implants-surface alteration and attempted sterilization. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 7 : 441-449, 1992.
30. Dennison, D.K., Huerzeler, M.B., Quinones, C., and Caffesse, R.G. : Contaminated implant surfaces-an in vitro comparison of implant surface coating and treatment modalities for decontamination. *J. Periodontol.* 65 : 942-948, 1994.
31. Keller, J.C., Draughn, R.A., Wightman, J.P., Dougherty, W.J.,and Meletiou, S.D. : Characterization of sterilized CP titanium implant surface. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 5 : 360-367, 1990.
32. Burchard, W.B., Cobb, C.M., Drisko, C.L., and Killoy, W.J. : The effects of chlorhexidine and stannous fluoride on fibroblast attachment to different implant surface. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 6 : 418-426, 1991.
33. Dmytryk, J.J., Fox, S.C., and Moriarty, J.D. : The Effects of scaling titanium implant surfaces with metal and plastic instruments on cell attachment. *J. Peirodontol.*, 61 : 491-496, 1990.
34. Guy, S.C., McQuade, M.J., Scheidt, M.J., McPherson III, J.C., Rossmann, J.A., and Van Dyke, T.E. : In vitro attachment of human gingival fibroblasts to endosseous implant materials. *J. Periodontol.*, 64 : 542-546, 1993.
35. Bowers, K.T., Keller, J.C., Randolph, B.A., Wick, D.G., and Michaels, C.M. : Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 7 : 302-310, 1992.
36. Baumann, G., Mills, M., Rapley, J., and Hallman, W. : Plaque induced inflammation around implant. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 7 : 330-337, 1992.
37. Rühling, A., Koehler, T., Kreuser, J., and Plagman, H.C. : Treatment or subgingival implant surfaces with Teflon-coated sonic and ultrasonic scaler tips and various implant

- curettes, an in vitro study. Clin. Oral Impl. Res., 5 : 19-29, 1994.
38. Albrektsson, T., Brånemark, P.I., Hansson, H.A., and Lindstrom, J. : Osseo integrated titanium implants. Acta. Orthop. Scand., 52 : 155-170, 1981.
 39. Buser, D., Warriner, K., and Karring, T. : Formation of a periodontal ligament around titanium implants. J. Periodontol., 61 : 597-601, 1990.
 40. Boyan, B.D., Batzer, R., Kieswetter, K., Liu, Y., Cochran, D.L., Szmuckler-Moncler, S., and Schwartz, D.D. : Titanium surface roughness alters responsiveness of MG63 osteoblast-like cells to $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$. J. Biomed Mater. Res., 39 : 77-85, 1998.
 41. Vezeau P.J., Koorbusch, G.F., Draughn, R.A., and Keller, J.C. : Effects of multiple sterilization on surface characteristics and in vitro biologic responses to titanium. J. Oral. Maxillofac. surg., 54 : 738-746, 1996.
 42. McKinney, R.V., Steflick, D.E., Koth, D.L., and Singh, B.B. : The scientific basis for dental implant therapy. J. Dent. Educ., 52 : 696-705, 1988.

사진부도 설명

Figure 1. Control specimen (SEM $\times 750$)

Figure 2. Specimen instrumented by plastic curette (SEM $\times 750$)

Figure 3. Specimen instrumented by Titanium curette (SEM $\times 750$)

Figure 4. Specimen instrumented by S-S curette (SEM $\times 750$)

Cell attachment and cell morphology were similar appearance on all experimental groups. Cell morphology was stellate, flat with the many surface bleb, filopodia, lamellopodia. Most cells are extremely flat. Most cells were firmly attached to all instrumented surface.

사진부도

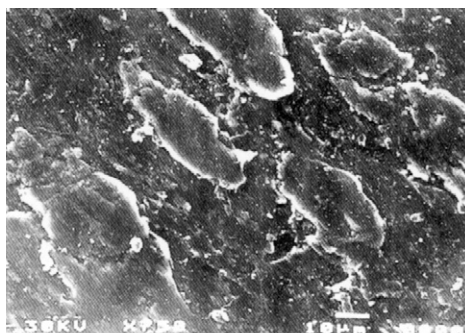


Figure 1



Figure 2

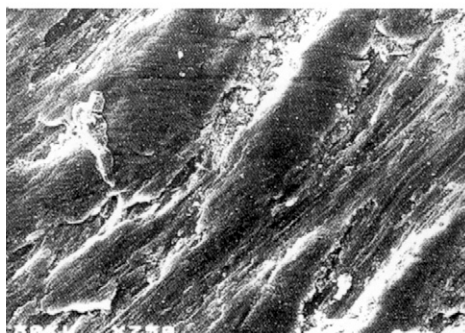


Figure 3



Figure 4

Attachment of Human Gingival Fibroblasts to Commercially Pure Titanium Surfaces with Different Instruments : A comparative Study in Vitro

Sung-Chan Seo, In-Taeck Song, Jeong-Su Lim, Hyung-Seop Kim
Department of Periodontology and Research Institute of Oral Bio-science,
College of Dentistry, Chonbuk National University

This study examined the human fibroblasts cell attachment to commercially pure titanium surface which had been instrumented by 3 types of periodontal instruments. Commercially pure titanium plates were uniformly scaled using plastic, stainless steel, titanium curette, these all experimental groups 65 unidirectional strokes with the designated curettes. Alteration of the surfaces due to instrumentation was evaluated by Form Talysurf® and reported as Ra value(mean surface roughness). Then other experimental groups were immersed in a cell suspension of human gingival fibroblasts(1×10^5 cell/ml). After 3 days of culture, cell attachment and morphology was observed by SEM, and attached cell were counted by Hemocytometer. A significant difference in mean Ra value was observed for surface instrumented by metal curette compared to either control surface or surface instrumented by the plastic curette($P < 0.01$). No statistically significant difference was noted between control surface and those instrumented by the plastic curette. SEM observation showed that cell morphology and attachment to the commercially pure titanium plate was similar appearance on the all experimental groups. Experimental groups instrumented by titanium curette and stainless steel curette were more attached cell number than control group, but experimental group instrumented by plastic curette were similar with control groups($P < 0.01$). In summary, metal curette produced a significant alteration of the commercially pure titanium surface and more favorable surface topography for cell attachment. Otherwise plastic curette was insignificantly altered the commercially pure titanium surface($P < 0.01$).