

오염된 임플란트 표면의 해독 방법에 따른 내독소 제거 효과에 관한 연구

박중희 · 임성빈

단국대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서론

임플란트 치과학은 지난 십년간 가장 큰 관심사로 대두되고 있으며, 생체 적합성을 지닌 타이타늄 임플란트가 무치악 환자에서 예후가 좋은 수복방법임이 입증되고 있다^{1,2)}. 많은 성공사례에도 불구하고 수복된 임플란트는 자연치와 마찬가지로 질환에 이환될 수 있다. 임플란트 주위 치주염은 생역학적³⁾, 교합적 과부하⁴⁾의 결과로 일어날 수도 있으나 가장 큰 원인은 미생물학적인 요소이다.

윤상섬유(Circular fiber)의 배열은 자연치와 임플란트 주위의 점막주위 방어기전(perimucosal seal)에 큰 역할을 하고 있다^{5,7)}. 임플란트와 평행한 섬유의 주행과 불안정한 연조직 접합은 자연치 보다 임플란트에서 치태에 의한 질환에 더 이환되기 쉬움을 보여주고 있다. 결국 이러한 원리로 치태에 기인한 치은염은 임플란트 주위 치주염으로 쉽게 진전될수 있다⁸⁾.

일단 골유착이 붕괴되거나 이루어지지 못하면, 결합조직이 골과 임플란트 계면에 나타난다. 유착 실패로 기인한 임플란트의 미세동요는 치은 염증을 악화시키고 임플란트 주위에 치주낭을 형성한다. 앞서

언급한 것처럼 치아 주변 치은변연부의 치태 침착은 임상적으로 치은염의 시작과 연관되며^{9,10)}, 치주병인균과 부산물로 이루어진 치태의 침입은 치주낭의 진전과 임플란트 주위 골의 결손을 진전시킬 수 있다. 건강한 치주조직에서 치은염으로의 진행은 열구내의 미생물군의 대략 5-30%를 차지하는 그람음성균의 양과 형태의 증가를 도모한다¹¹⁻¹³⁾.

Steinberg¹⁴⁾나 Quirynen¹⁰⁾등에 의하면 건강한 경우나 질환에 이환된 경우, 자연치와 임플란트 사이의 세균군의 형태는 동일하다고 하였고, 최근 Mombelli 등¹¹⁾은 실패증인 임플란트의 미생물을 분석한 결과 그람 음성의 혐기성 간균이 주된 미생물군을 이루고 있으며, 특히 Black-pigmented Bacteroides와 Fusobacterium species가 규칙적으로 발견된다고 보고하였다. Alcoforado 등¹⁵⁾도 17명의 환자를 대상으로 하여 실패한 임플란트를 미생물학적으로 관찰한 결과, Enteric gram-negative rods, *Bacteroides intermedius*, *A actinomycetemcomitans*, Black-pigmented bacteroides를 관찰할 수 있었다고 하였다. 결과적으로, 임상적 측면에서 볼때 임플란트 주위조직의 변연에 인접한 *A actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedius*의 중등도 이상의 높은 수준은

*교신저자 : 임성빈, 충청남도 천안시 신부동 산 7-1 단국대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호: 330-716

주위 조직의 붕괴를 가속화시킬 수 있는 중요한 위험요소가 되는 것이다¹⁶⁻¹⁸⁾.

이러한 그람음성균의 주목할만한 특징은 세포벽(cell envelope)을 가지며, 내독소(endotoxin)라 불리는 LPS(lipopolysaccharide)를 포함하고 있다는 것이다. 이러한 LPS는 구강내 열구상피를 통과하여¹⁹⁾ 백악질과 치은연하 치태, 열구액과 연관되며 다양한 생물학적 반응을 일으키게 된다. 또한, LPS는 대식세포의 collagenase의 분비 자극과 파골세포의 골흡수를 유도하고 prostaglandin의 유리를 자극하며 상피세포(epithelial cell)와 섬유아세포(fibroblast)에 대한 독성을 지닌다²⁰⁻²¹⁾.

치주병인균과 부산물로 이루어진 치태의 침입은 치주낭의 진전과 임플란트 주위 골의 결손을 진전시킬 수 있다. 재생술식을 시도함에 있어 병인균에 오염된 임플란트 표면을 어떻게 처리하는가? 하는 문제가 고려되어야 한다. 자연치에서 행해지는 치근면 활택과 같은 기구조작의 방법으로는 임플란트 표면을 변형시킬 수 있으며, 타이타늄을 세척하기 위해서 다른 종류의 금속을 사용하는 것은 galvanic corrosion을 일으킬 수도 있다²²⁾.

이에 본 연구에서는 임플란트 주위 치주염과 연관된 세균에 의해 인위적으로 오염된 임플란트 표면을 제작하고, 임상적으로 사용 가능한 다양한 방법에 의해 표면을 처리한 후, 해독효과를 내독소의 감소 정도를 통해 평가하고자 하였으며, 결과를 바탕으로 임플란트 주위 치주염 치료를 위한 재생술식의 사용시 임상적 지표를 얻으려 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

1) 실험 모형

직경 10 mm, 높이 2 mm의 titanium 원통형 모델을 산부식과 sandblasting 과정을 통해 거친 표면의 titanium implant와 동일한 표면형태를 갖도록 주문 제작(Neoplant, NEOBIO TECH, KOREA)하였다.

2) 세균과 배지

① *A.a(Actinobacillus actinomycetemcomitans)*
*A.a(ATCC 33384)*를 BHI(brain heart infusion) broth medium에서 37°C, 혐기성 조건에서 배양하였다.

② *P.g(Porphyrromonas gingivalis)*
*P.g(ATCC 33277)*를 hemin(5.0 µg/ml)과 menadione(0.5 µg/ml)을 첨가한 BHI broth medium에서 37°C, 혐기성 조건에서 배양하였다.

3) 내독소 검출 시약

키네틱 LAL 시험법을 위해 KCA(Kinetic Chromogenic Assay) LAL Reagent인 Endochrom-K(Charles River Lab. Inc., USA)를 사용하였다. 이 시약은 내독소가 많이 존재할수록, 즉 켈화가 많이 일어날수록 노란색의 발색기를 나타내도록 고안된 시약으로 처리된 시편의 용출액과 100 µl:100 µl의 비율로 반응시켰다.

4) 임플란트 표면처리

① 물리적 표면 처리: 공기-분말 연마
Microprophy™(Danville Engineering Inc., USA)를 55psi 압력 하에서 증류수와 분말(sodium bicarbonate, sodium laurel, etc)을 2:1로 혼합한 후, 10 mm 거리에서 60초 동안 분사하여 사용하였다.

② 화학적 제재(Chemical agents) 처리

i) 과포화 구연산(pH 1)

실온 상태에서 anhydrous citric acid를 포화 상태가 될 때까지 용해시킨 후 No. 1 Whatman filter에 통과시켜 pH 1 용액을 제작하였다.

ii) 테트라사이클린

테트라사이클린을 50mg/ml 농도로 증류수와 혼합하여 cotton pellet을 이용하여 시편에 문지르는(burnishing) 동작으로 적용하였다.

2. 연구방법

1) 시편의 오염(contamination)

모든 시편은 두그룹, 즉 *A.a*군 및 *P.g*군으로 나누

었다.

① A.a군

BHI broth(Oxoid co., England)를 증류수와 혼합하여 200ml(37g/l)의 배지를 제작하고 121°C에서 15분간 멸균하였다. A.a가 자라고 있는 세균현탁액(bacterial suspension) 0.1ml과 시편을 배지에 넣고 혐기성 조건하에 37°C에서 72 시간동안 배양하였다.

② P.g군

BHI broth(Oxoid, England)를 증류수와 혼합하여 200ml(37g/l)의 배지를 제작하고 hemin(5.0µg/ml)을 첨가한 후 121°C에서 15분간 멸균하였다. 제작된 배지에 menadione(0.5µg/ml)을 0.2µm filter(Millex-GP, Millipore)로 filtering하여 주입한 후 bacteria suspension 0.1ml과 시편을 배지에 넣고 혐기성 조건하에 37°C에서 72 시간동안 배양하였다.

2) 시편의 처리

① 대조군(control group)

각각의 세균으로 오염된 타이타늄 시편을 증류수로 30초간 세척한 군을 대조군으로 하였다.

② 실험군(test groups)

대조군의 타이타늄 시편을 증류수에 적신 cotton pellet을 이용하여 1분간 문지른(burnishing) 군을 실험 1군, Microprophy™를 이용하여 공기-분말 연마를 1분간 시행한 군을 실험 2군, 과포화 구연산과 테트라사이클린을 이용하여 1분간 burnishing한 군을 각각 실험 3군과 실험 4군으로 하였다. 모든 실험군은 각각의 처리 후에 증류수로 1분간 세척하였다.

3) 내독소의 정량분석(endotoxin assay-Kinetic LAL test)

① 처리된 시편의 용출(elution)

각각의 방법으로 처리된 시편을 LAL Reagent water에 넣고 37°C에서 96시간동안 배양하여 시험 용액을 만들고, 각 용액은 10배로 희석하여 각각 100 µl씩을 사용하였다.

② 내독소 표준원액(CSE: Control standard endotoxin)의 조제

대장균에서 추출한 표준 내독소(CSE from Strain 055:B5, Charles River Lab. Inc., USA)를 Endotoxin free water(LAL Reagent water, Charles River Lab. Inc., USA)에 용해시켜 50EU/ml의 역가를 갖도록 제작하고, 표준직선을 만들기 위해 10배 희석법을 이용하여 50, 5, 0.5, 0.05, 0.005EU/ml 농도를 갖는 내독소 표준액을 제작하였다.

③ 분광광도계(Spectrophotometer)를 이용한 정량 분석

96 well을 갖는 microplate(Corning inc., USA)에 5 가지 농도의 내독소 표준용액과 시편의 용출액을 0.1ml씩 분주한후, Endochrome-K 용액을 각각의 시료에 0.1ml씩 분주하였다. Kinetic software인 SOFTmax ver.3.1.2 program을 이용하여 wavelength 405nm, onset OD 0.1, incubation temperature 37°C로 설정한 후 microplate reader (VERSAmatrix™ Molecular Device, USA)를 이용하여 1 시간 동안 121회의 연속적 측정을 통하여 시료내의 내독소 농도를 측정하였다.

4) 통계 처리

Windows용 SPSS ver. 10.0(SPSS Inc., USA)를 사용하여 각 군의 표면 처리에 따른 내독소 농도의 평균과 표준편차를 구하고 각 실험방법에 의한 내독소

Table 1. Treatment methods of control and test groups

Groups	Treatments
Control	Contaminated disc washed with Distilled water for 30 sec.
Test 1	Distilled water soaked cotton pellet burnishing for 1 min.
Test 2	Air-powder abrasive application for 1 min.
Test 3	Citric acid burnishing for 1 min.
Test 4	Tetracycline burnishing for 1 min.

농도의 변화를 알아보기 위하여 One-way ANOVA test를 이용하여 통계 처리하였다.

III. 연구결과

1. 표준 곡선(standard curve)

농도별로 희석된 표준 내독소의 각 농도에 대한 평균 onset time은 50EU/ml의 표준용액에서 434초로 가장 빠르게 측정되었고, 0.005EU/ml의 표준용액에서 2642초로 가장 느리게 측정되었다(Table 2).

표준곡선에 대한 관계식, $\text{Log}(y) = A + B \cdot \text{Log}(x)$ 에서 회귀직선의 직선성 확인을 위한 회귀계수 R은 0.998, 기울기의 절대값은 0.119로 측정되었다(Figure 1).

2. Mean onset time

설정된 OD=0.1에 도달하는 시간을 나타내는 onset time의 측정시 A.a군은 2568초에서 3548초의

범위에 있었으며, P.g군은 873초에서 3479초의 범위에 있었다. A.a와 P.g군 모두 대조군에서 각각 2568초, 873초로 가장 적은 onset time을 나타내었으며, 전체적으로는 P.g의 대조군에서 가장 적은 수치를 보였다(Table 3, Figure 2, 3).

3. 평균 내독소 농도

Kinetic LAL test를 통한 내독소 농도의 정량분석시 A.a의 각 군은 0.0072에서 0.0014EU/ml의 범위에 있었고(Table 4, Figure 4), P.g군의 경우에는 1.5705에서 0.0015EU/ml의 범위에 있었다(Table 5, Figure 5). A.a군과 P.g군 모두 대조군에서 각각 0.0072, 1.5705EU/ml로 각 실험군에 비해 가장 큰 내독소 농도의 값을 나타내었다. A.a군의 경우에 모든 실험군은 대조군에 비해 유의한 내독소 농도의 감소를 보였다($p < 0.05$). 또한, 증류수에 의해 처리된 실험1군에 비해 실험 2군, 3군, 4군에서도 유의한 내독소 농도의 감소를 보였으나($p < 0.05$) 실험 2군, 3군, 4군 사

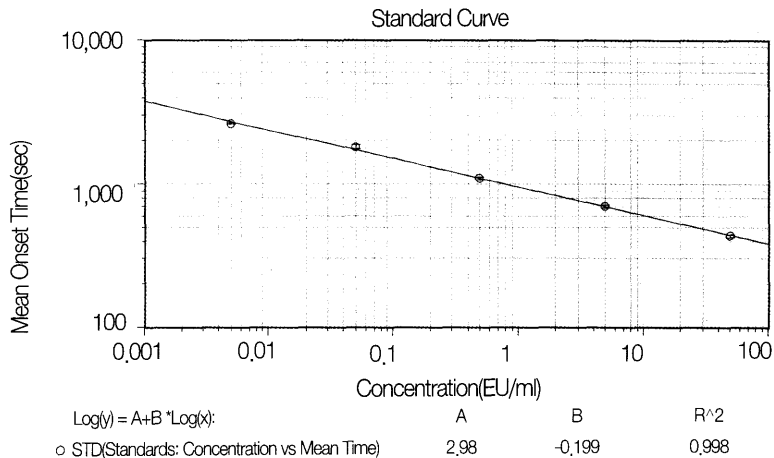


Figure 1. Standard curve(Log-Log)

Table 2. Mean onset time(sec) and standard deviation for standards

EU/ml	0,005	0,05	0,5	5	50
Mean(sec)	2642	1817	1096	695	434
St. D	28,1	48,5	17,7	19,4	9,0

A. actinomycetemcomitans group

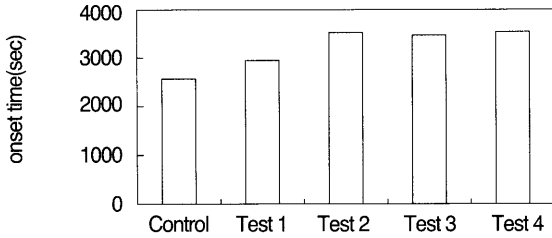


Figure 2. Mean onset time for A. a group

P. gingivalis group

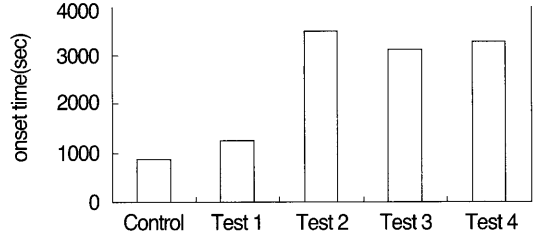


Figure 3. Mean onset time for P.g group

Table 3. Mean onset time(sec) for A,a and P.g group

	Control	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4
A,a group	2568	2950	3510	3459	3548
P.g group	873	1241	3479	3107	3254

Table 4. Mean LPS level for A,a group

	Control	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4
Mean(EU/ml)	0,0072	0,0035 *	0,0014 *	0,0016 *	0,0014 *
St, D	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

* : Significantly different from control group(p<0,05)

Table 4. Mean LPS level for A,a group

	Control	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4
Mean(EU/ml)	1,5705	0,2679	0,0015 *	0,0028 *	0,0023 *
St, D	1,65	0,27	0,00	0,00	0,00

* : Significantly different from control group(p<0,05)

A. actinomycetemcomitans group

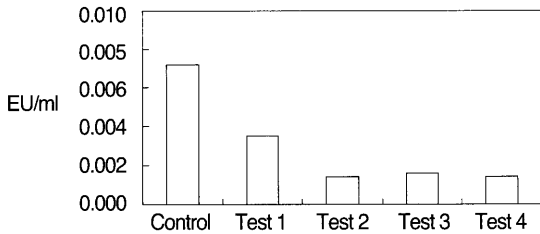


Figure 4. Mean LPS level for A,a group

P. gingivalis group

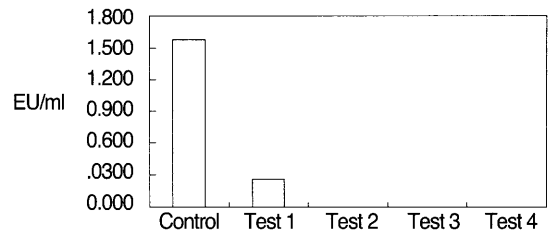


Figure 5. Mean LPS for P.g group

이에는 유의한 차이가 없었다. P.g군에서도 실험 2군, 3군, 4군은 대조군에 비해 유의한 내독소 농도의 감소를 보였으나(p<0.05), 각 실험군 사이에서 내독소 농도의 유의한 차이는 없었다.

IV. 총괄 및 고찰

실패한 임프란트는 보통 주변조직의 감염과 연관되어 있다. 미생물은 치주염을 일으키는 가장 큰 원인이기 때문에 임프란트 주위의 미생물군(microbiota)의 조성도 마찬가지로 임프란트의 운명을 결정지을 수 있는 확고한 요소라고 할 수 있다. 임프란트 주위 치주염과 치주질환사이의 질병 요소는 파괴의 양상을 볼 때 거의 동일하며¹¹⁾, 실패한 임프란트와 연관된 미생물 또한 치주염과 연관된 미생물로 인식되어진다. 임프란트는 치아에서처럼 세균과 세균의 부산물들을 제거하기 위한 치근활택술과 같은 방법을 사용할 수 없기 때문에, 질병에 이환된 부위의 임프란트 표면에 대한 처치는 매우 어렵다. 이에 본 연구에서는 임프란트 주위염으로 인해 흡수된 골의 재생 치료를 위해 임프란트 표면의 세균을 포함한 부산물을 제거할 수 있는 가장 효과적인 방법을 결정하는 것을 일차 목표로 삼았다.

그람 음성균의 LPS는 전형적으로 lipid A, core sugar portion, polysaccharide side chain으로 구성되며 치주조직내에서 다양한 반응을 일으킬수 있다. 분자내의 lipid A 부위는 보체계의 classic pathway를 활성화시키며, 반면에 core sugar 부위는 alternate pathway를 활성화시킨다²³⁾. 또한 LPS는 대식세포의 collagenase의 분비를 자극하여 파골세포의 골흡수를 유도하고 prostaglandin의 유리를 자극한다²⁴⁻²⁷⁾. 더욱이 LPS는 상피세포²⁸⁾와 섬유모세포²⁹⁾에 대한 세포독성을 가지며, 이러한 기전은 치주질환에서 보이는 조직파괴에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 서론에서 언급된 것처럼 본 연구에서는 임프란트 주위염에서 많이 발견되는 *P. gingivalis*와 *A. actinomycetemcomitans*의 두 균주를 사용하였다. 사용된 *P. gingivalis*의 LPS는 acyl chain에 상당히 긴 fatty acid를 가지는 것이 특징이며³⁰⁾, 숙주세포에 대

해 단핵세포나 대식세포로부터 Interlukin-1, prostaglandin, TNF 등을 유리시키며, osteoblast-like cell로부터 collagenase를 유리하여 골흡수를 자극한다. *A. actinomycetemcomitans*의 경우에도 leukotoxin에 의한 다형핵 백혈구를 죽이는 기능과 함께 섬유아세포 억제효소와 collagenase ATPase 등에 의한 골흡수, LPS에 의한 osteolysis를 일으키게 된다³¹⁻³²⁾.

내독소의 검출을 위해서 사용한 방법은 LAL 시험법으로, LAL(Limulus Amebocyte Lysate)은 미국 대륙의 대서양 연안에 분포하는 투구게(Limulus polyphemus)의 순환혈액세포의 추출물로 엔도톡신과 만나게 되면 겔을 형성하는 반응을 일으킨다. LAL 시험법에는 겔화법(gelation)과 키네틱(kinetic) 방법이 있으며, 본 실험에 사용된 방법은 키네틱 방법을 이용한 정량분석법으로, 이미 알고 있는 농도의 엔도톡신을 이용하여 표준직선을 만들고, 동시에 샘플을 시험하여 샘플이 엔도톡신과 만나 겔을 형성하는 과정 중의 탁도의 증가를 측정하여 샘플의 엔도톡신 양을 표준직선에 대입하여 정량하는 방법이다. 본 실험은 LAL 시약에 조효소를 첨가하여 내독소와 반응시 노란색의 발색반응을 일으키는 KCA(Kinetic Chromogenic analysis: Endochrom-K, Charles River Lab. USA) 시약과 microplate reader를 이용하여 연속적 측정으로 정량분석을 시행하였다. 이 방법은 빠른 시간내에 손쉽게 시행할 수 있다는 장점이 있으나, 온도에 민감하고 반응시간에 크게 좌우되는 효소 반응이므로, 본 실험에서는 시약의 분주전에 96 well microplate를 37°C로 예열하고 중앙부에 시료 용액을 분주하는 방법으로 실험 오차를 최소화하였다.

본 연구는 세균이 배양되고 있는 단순한 액체계(aqueous system)를 사용하여 타이타늄 시편으로부터의 LPS 용출을 평가하기 위해 사용되었으며, 세균 없이 존재할 수 있는 LPS를 기대하지는 않았다. *P. gingivalis*와 *A. actinomycetemcomitans*의 초기 대조군에 있어서 용출된 LPS는 다소 차이를 보였지만, 방사선 동위원소를 이용하여 표면에 부착되어 있는 LPS 검출에 관한 부분은 다루지 않았기 때문에, 상기

결과가 세균이나 LPS의 초기 부착을 의미하지는 않는다. Steinberg 등¹⁴⁾의 연구에서 *P. gingivalis*는 *A. actinomycetemcomitans*나 *A. viscosus*보다 타이타늄과 타이타늄 합금에 더 낮은 부착을 보인다고 하였다. 그러나 본 연구에서 용출시킨 LPS는 *P. gingivalis*의 경우에 *A. actinomycetemcomitans*보다 더 많았으며, 이는 표면에 부착된 LPS의 용출 비율뿐 아니라 LAL 시약에 대한 각 세균 LPS의 반응성 차이 등에 의한 결과일 수 있다. 임플란트 주위 열구액은 LPS의 부착에 영향을 줄 수 있는 복잡한 환경을 포함한다. 실제로, 치은 열구에 자생하는 세균의 존재는 LPS 부착에 영향을 줄 수 있으며, LPS의 차이는 LPS 부착에 영향을 줄 수 있는 열구액의 pH와 같은 생리화학적 변수에 있다^{33,34)}. 이는 LPS를 포함한 세균의 오염을 위해서는 단순한 액체계가 아닌 임상적 치태와 그에 부착되는 그람 양성 세균, 그람 음성 세균을 포함한 다양한 미생물학적 요소를 고려해야 함을 의미한다.

최근 수년간 공기분말 연마는 치아의 착색을 제거하기 위해 사용되어 왔으며 이러한 방법을 병적으로 변형된 dental implant 표면의 외과적인 처치를 위해 사용하기도 하였다. Parham 등³⁵⁾은 공기분말 연마를 사용하여 plasma-sprayed 타이타늄 임플란트에 대한 효과를 평가하였는데, 임플란트 표면의 변형없이 모든 bacterial colonization을 제거할 수 있다고 결론지었다.

임플란트 표면의 물리적인 요소뿐 아니라, 표면을 해독(detoxifying)하는 방법 또한 세균의 산물을 제거하여 재생술식의 성공을 위한 적절한 방법을 결정하는데 중요하다. Dennison 등³⁶⁾은 plasma-sprayed 임플란트와 Hydroxyapatite(HA) coated 임플란트에 대한 실험에서 공기분말 연마가 임플란트 표면의 처리에 있어 우수한 효과를 보였으며, plasma-sprayed implant의 경우에 가장 효과적이라고 하였다.

Dennison 등³⁶⁾은 또한 구연산이 HA-coating 표면에 가장 효과적이었는데 이는 화학적, 물리적인 방법을 통해 HA 표면의 가장 표층의 HA층을 제거(demineralization)하는 현상이라고 하였다. 또한 Zablotsky 등^{37,38)}은 LPS로 감염된 HA-coated 임플란

트 표면을 연구하여, 짧은 시간(30초~1분)의 구연산 적용이 잔존 표면의 변형없이 LPS를 제거할 수 있다고 하였다. 본 연구에 사용된 표면은 산에 의해 부식된 거친 표면이다. 따라서 HA 표면에 대한 기전이 산에 의해 부식된 toxic titanium이나 titanium alloy의 경우에도 동일하게 적용할 수 있는가에 대한 것은 명백하지는 않다. 그러나, 공기분말 연마, 구연산 등을 적용하는 경우 평균 표면 거칠기(Ra)가 감소한다는 Chairay³⁹⁾와 Rapley⁴⁰⁾의 보고처럼, 해독을 위한 처리후에는 산화막을 포함한 표층의 미세마모를 예상할 수 있으며, LPS의 감소되는 결과 또한 그에 기인한 것이라고 볼 수 있겠다.

LPS는 질환에 이환된 치아표면에서 제거될 수 있으나, 치아 표면의 retoxification은 짧은 시간내에 다시 일어난다. 마찬가지로, 임플란트 표면에서 LPS는 제거될 수 있으나 retoxification 또한 쉽게 일어난다^{36-38,41)}. 본 연구 결과에서 오염된 임플란트의 LPS 제거에 있어, 공기분말 연마와 구연산, 테트라 사이클린의 효과는 같았다. Dennison³⁶⁾은 80%의 표면 내독소 level의 감소가 골유착이 가능한 정도의 내독소 수준을 낮추는데 충분하다고 하였지만, 본 연구에서 골유착을 억제할 정도의 내독소의 양이나 표면의 처리가 재오염이나 골유착에 어떠한 효과를 지닐 수 있는가에 대한 관계는 규명할 수가 없었다. 실제로 *A. actinomycetemcomitans*군에서 증류수의 처리가 다른 방법과 오염된 임플란트 표면에서 용출될 수 있는 내독소 수준의 감소에 있어서 거의 같은 효과를 보였어도, 임상적으로 더 우수한 골유착에 대한 효과는 각각 다를 수 있다.

임플란트 주위 환경에 노출된 임플란트 표면의 해독과정은 어려운 일이다. 주위 골과 조직에 의한 제한된 시야뿐 아니라, 표면의 변형에 대한 문제점때문에 일반적인 hand instrument로 그 과정을 수행하는 일은 어렵다⁴²⁾. 이러한 관점에서, 본 연구의 결과는 세균과 더불어 포함된 부산물을 제거하기 위한 방법으로 사용된 공기분말 연마와 구연산, 테트라 사이클린의 적용이 임상적으로 유리함을 보여준다. 하지만 그러한 해독과정과 골유착 사이에 작용하는 여러 요소에 대한 더 큰 이해와 임상적 적용을 위해서는

세포의 부착과 재생을 확인할 수 있는 세포학적 연구와 조직병리학적 실험에 대한 더 많은 연구가 필요할 것이라 사료된다.

V. 결론

오염된 임플란트 표면을 임상적으로 사용 가능한 여러 방법을 이용하여 세척하는 경우 내독소 감소를 통한 해독효과를 알아보기 위해 거친 표면의 타이타늄 시편을 제작하고, *P. gingivalis*와 *A. actinomycetemcomitans*로 오염시킨 모든 모형을 증류수, 공기-분말 연마, 구연산, 테트라사이클린으로 처리한 경우, LAL 시험법을 통해 내독소의 농도를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. A,a 군에서 모든 실험군은 대조군에 비해 유의한 내독소 농도 감소를 보였다($p < 0.05$).
2. A,a 군의 내독소 정량분석 결과 증류수로 처리한 실험 1군에 비해 실험 2군, 3군, 4군에서 유의한 내독소 농도의 감소를 보였으며($p < 0.05$), 실험 2군, 3군, 4군 사이에는 유의한 차이가 없었다.
3. P.g 군에서 실험 2군, 실험 3군, 실험 4군은 대조군에 비해 내독소 농도의 유의한 감소를 보였으나($p < 0.05$), 각 실험군간에는 내독소 농도의 유의한 차이가 없었다.

이상으로 미루어 보아 임플란트 주위 치주염의 병인균으로 인정되는 *P. gingivalis*와 *A. actinomycetemcomitans*에 의해 오염된 임플란트의 표면 처리시, 공기-분말 연마, 구연산, 테트라사이클린의 적용은 표면 내독소 제거에 효과가 있으며, 임플란트 주위 치주염의 골재생 치료시 효과적인 해독 방법으로 사료되었다.

VI. 참고문헌

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B and Bränemark PI: A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. *Int J Oral Surg*, 1981, 10: 387-416.
2. Kent JN, Block MS, Finger IM, et al: Biointegrated hydroxyapatite-coated dental implants: 5-year clinical observations. *J Am Dent Assoc*. 1990, 121: 138-144.
3. Meffert RM, Block MS, Kent JN: What is osseointegration? *Int J Periodont Rest Dent*, 1987, 7: 9-21.
4. Newman MG, Flemmig TF: Periodontal considerations of implants and implant associated microbiota. *J Dent Educ*, 1988, 52: 737-744.
5. Arnim S, Hagerman D: The connective tissue fibers of the marginal gingiva. *J Am Dent Assoc*, 1953, 47: 271-281.
6. James R: The support systems and the perigingival defense mechanism of oral implants. *J Oral Implantol*, 1976, 6: 270-285.
7. Meffert RM: How to maintain the endosseous implant. *Dent Today*. 1991, 10: 36, 38-39.
8. Kwan JY, Zablotzky MH: Peri-implantitis, the ailing implant. *Implant Soc*. 1991, 2: 6-9.
9. Apse P, Ellen RP, Overall CM, Zarb GA: Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: a comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. *J Periodont Res*, 1989, 24: 96-105.
10. Quirynen M, Ligthart MA: Distribution of bacterial morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Bränemark. *Clin Oral Implant Res*, 1990, 1: 8-12.
11. Mombelli A, van Oosten MAC, Schuch E, Lang NP: The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants: Oral Microbiology and Immunology. 1987, 2: 145-151.
12. Koka S, Razzong ME, Bloem TJ, Syed S: Microbial colonization of dental implants in par-

- tially edentulous subjects. *J Prosthet Dent.* 1993, 70: 141-144.
13. George K, Zafiroopoulos GG, Murat Y, Hebertus S, Nisengard RJ: Clinical and microbiological status of osseointegrated implants. *J Periodontol.* 1994, 65: 766-770.
 14. Steinberg D, Sela MN, Klinger A, Kohavi D: Adhesion of periodontal bacteria to titanium and titanium alloy powders. *Clin Oral Impl Res.* 1998, 9: 67-72.
 15. Alcoforado GAP, Feik D, Rams TE, Rosenberg ES, Slots J: Microbiology of failing osseointegrated dental implants. Abstract. 1989, ASM Annual Meeting.
 16. Slots J, Bragd L, Wikstrom M, Dahlen G: The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol.* 1986, 13: 570.
 17. Palmisano DA, Mayo JA, Block MS, Lancaster DM: Subgingival bacteria associated with hydroxyapatite-coated dental implants, morphotypes and trypsin-like enzyme activity. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1991, 6: 313-318.
 18. Savitt ED, Socransky SS: Distribution of certain subgingival microbial species in selected periodontal conditions. *J Periodont Res.* 1984, 19: 218-230.
 19. Schwartz J, Stinson FJ, Parker RB: The passage of tritiated bacterial endotoxins across intact gingival crevicular epithelium. *J Periodontol.* 1972, 43: 270-276.
 20. Simon BI, Goldman HM, Ruben MP, Baker E: The role of endotoxins in periodontal disease: I- a reproducible, quantitative method for determining the amount of endotoxin in human gingival exudate. *J Periodontol.* 1969, 40: 695-701.
 21. Wilson M: Biological activities of lipopolysaccharides from oral bacteria and their relevance to the pathogenesis of chronic periodontitis. *Sci Prog.* 1995, 78: 19-34.
 22. Reclaru L, Meyer JM: Study of corrosion between a titanium implant and dental alloys. *J Dent.* 1994, 22: 159-168.
 23. Morrison DC, Kline LF: Activation of the classical, and properdin pathways of complement by bacteria lipopolysaccharides(LPS). *J Immunol.* 1977, 118: 361-368.
 24. Wahl LM, Wahl SM, Mergenhagen SE, Martin GR: Collagenase production by endotoxin-activated macrophage. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1974, 71: 3598-3601.
 25. Hausman C, Weinfeld N, Miller W: Effect of lipopolysaccharides on bone resorption in tissue culture. *Science.* 1972, 168: 862-864.
 26. Hausman E, Luderitz O, Knox K, Weinfeld N: Structural requirements for bone resorption by endotoxins and lipoteichoic acid. *J Dent Res.* 1975, 54: 94-99.
 27. Bom-van Noorloos AA, Van Der Meer JW, Van De Gevel JS et al: *Bacteroides gingivalis* stimulates bone resorption via interleukin-1 production by mononuclear cells: the relative role for *B. gingivalis*. *J Clin Periodontol.* 1990, 17: 409-413.
 28. Hatfield C, Baumhammer A: Cytotoxic effects of periodontally involved surfaces of human teeth. *Arch Oral Biol.* 1971, 16: 465-8.
 29. DeRenzi FA, Chen S: Ultrastructural study of cultured human gingival fibroblasts exposed to endotoxins. *J Periodontol.* 1983, 9: 1-15.
 30. Ogawa T: Immunobiological properties of chemically-defined lipid A from lipopolysaccharide of *Porphyromonas(Bacteroides) gingivalis*. *Eur J Biochem.* 1994, 219: 737-42.
 31. Renvert S, Wikstrom M, Dahlen S, et al: Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and

- Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. J Clin Periodontol. 1990, 17: 345.
32. Slots J, Listgarten MA: *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. J Clin Periodontol. 1988, 15: 85.
 33. Knoernschild KL, Lefebvre CA, Schuster GS, Payant LM et al: Endotoxin adherence to and elusion from two casting alloys. Int J Prosthodont. 1994, 7: 22-29.
 34. Robinson FG, Knoernschild KL, Sterrett JD, Tompkins GR: Porphyromonas gingivalis endotoxin affinity for dental ceramics. J Prosthet Dent. 1996, 75: 217-227.
 35. Parham PL, Cobb CM, French AA, Love JW, Drisko CL, Killoy WJ: Effects of an air-powder abrasive system on plasma-sprayed titanium implant surfaces: An in vitro evaluation. J Oral Implantol. 1989, 15: 78-86.
 36. Dennison DK, Huerzeler MB, Quinones C, Caffesse RG: Contaminated implant surfaces: An in vitro comparison of implant surface coating and treatment modalities for decontamination. J Periodontol. 1994, 65: 942-948.
 37. Zablotsky MH, Diedrich DL, Meffert RM: Detoxification of endotoxin-contaminated titanium and hydroxyapatite-coated surfaces utilizing various Chemotherapeutic and mechanical modalities. Implant Dent. 1992, 1: 154-158.
 38. Zablotsky MH, Diedrich DL, Meffert RM, Wittrig E: The ability of various chemotherapeutic agents to detoxify the endotoxin infected HA-coated implant surface. Int J Oral Implant. 1991, 8: 45-51.
 39. Rapley JW, Swan RH, Hallmon WW, Mills MP: The surface characteristics produced by various oral hygiene instruments and materials on titanium implant abutments. Int J Oral Maxillofac Implants. 1990, 5: 47-52.
 40. Chairay JP, Boulekbache H, Jean A, Soyer A, Bouchard P: Scanning electron microscopic evaluation of effects of an air-abrasive system on dental implants: A comparative in vitro study between machined and plasma-sprayed titanium surfaces. J Periodontol. 1997, 68: 1215-1222.
 41. McCoy SA, Creamer HR, Kawanami M, Adams DF: The concentration of lipopolysaccharide of individual root surfaces at varying times following in vivo root planning. J Periodontol. 1987, 58: 393-399.
 42. McCollum J, O'Neal RB, Brennan WA, Van Dyke TE, Homer JA: The effect of titanium implant abutment surface irregularities on plaque accumulation in vivo. J Periodontol. 1992, 63: 802-805.

The Endotoxin Assay of Contaminated Titanium Implants following Various Techniques of Detoxification

Joong-Hee Park, Sung-Bin Lim

Department of Periodontology, College of Dentistry, Dan-Kook University

Peri-implantitis could be the result of biomechanical and occlusal overload as well as microbiologic invasion. The dental implant may be more susceptible to dental plaque than the natural tooth, as the predictability of a stable soft tissue attachment complex has not yet been confirmed.

With the development of peri-implantitis, the implant surface would be exposed to the oral environment and becomes coated with bacteria. The objective of therapy for this condition is to regain integration of the implant with bone. Since fibroblast adherence to surfaces is impeded by endotoxin, it would seem that decontamination would be desirable to obtain maximum osseointegration.

The purpose of this study was to determine whether various chemotherapeutic and mechanical treatments(distilled water, air-powder abrasive, hypersaturated citric acid, tetracycline) can detoxify contaminated titanium implant surface by means of kinetic LAL test.

Experimental rough surface titanium disks were fabricated. All of them were divided into two groups(A,a group and P,g group) and each contaminated by *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* suspension. Contaminated disks were treated with distilled water, air-powder abrasive, citric acid and tetracycline, and then all disks were placed into LPS-free water for elution.

The results were as follows :

1. In A,a group, LPS elute level of all test groups were significantly lower than control group($p < 0.05$).
2. In A,a group, LPS elute level of test 2, test 3 and test4 groups were significantly lower than that of control group($p < 0.05$). But, among the test 2, test 3, test4 groups, the significant differences were not detected.
3. In P,g group, LPS elute level of test 2, test 3 and test 4 groups were lower than that of control group($p < 0.05$). But, among the test groups, the significant differences were not detected.

From the result of this study, it would be concluded that air-powder abrasive, hypersaturated citric acid and tetracycline treatments may be effective at reducing endotoxin level on rough titanium implant surfaces, and can be clinically used. But the treatments in peri-implantitis differentially impact osseointegration making one method clinically superior. To gain this knowledges, further molecular biologic and histopathologic studies should be developed.

Key words: peri-implantitis, endotoxin, osseointegration.