

## 타이타늄 임플란트 골유착시 TGF- $\beta$ 와 IGF-I의 발현

이인웅<sup>1</sup> · 송현철<sup>2</sup> · 지유진<sup>2</sup>

가톨릭대학교 임상치과대학원 구강악안면외과학과<sup>1</sup>, 가톨릭대학교 성빈센트병원 치과 구강악안면외과<sup>2</sup>

### Abstract

#### EXPRESSION OF TGF- $\beta$ AND IGF-I DURING OSSEOINTEGRATION OF TITANIUM IMPLANT

In-Woong Lee<sup>1</sup>, Hyun-Chul Song<sup>2</sup>, Yu-Jin Jee<sup>2</sup>

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Graduate School of Clinical Dental Science, The Catholic University of Korea<sup>1</sup>*

*Div. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dept. of Dentistry, St. Vincent's Hospital, The Catholic University of Korea<sup>2</sup>*

Many of the molecular and genotypic events taking place at the osteoblast cell level during bone-implant integration are still largely unknown. The objective of this study was to examine expression patterns of TGF- $\beta$  and IGF- I related genes during bone-implant integration.

Titanium implants with machined surface were placed into 8 rabbit tibias. At 3rd, 7th, 14th, 28th day after implantation, the expression pattern of TGF- $\beta$  and IGF- I genes in bone with or without implant was examined using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). At the same time, histomorphometric analysis was evaluated, respectively.

The bone-to-implant contacts (BIC) of experimental groups were 5.2%, 6.2%, 6.6%, 24.6% at 3rd, 7th, 14th, 28th day. This indicated that newly formed bone increased at the implant surface in bone marrow space after implantation. The expressions of TGF- $\beta$  and IGF- I were higher in implantation groups than untreated control groups during all experimental days.

The increased expression of TGF- $\beta$  and IGF- I genes may be associated with the increased bone-to-implant contact. This result provided the evidence for existing biologic differences in tissue response after implantation and helped us to understand molecular biologic processes in tissue-implant integration.

**Key words** : Osseointegration, Titanium implant, TGF- $\beta$ , IGF- I , Histomorphometric analysis, RT-PCR analysis

### I. 서 론

임플란트 치과학은 지난 40년 넘게 치과진료의 주류로 발전되어 왔다. 임플란트를 이용한 수복치료는 계속 증가하고

있지만, 골의 양과 질이 불량한 경우에는 아직도 임플란트 실패율이 높은 것으로 보고되고 있고, 임플란트 식립 후 보철 수복하기까지 기다려야 하는 기간이 길다는 한계점이 있다<sup>1,2)</sup>.

※ 본 연구는 2004년도 가톨릭대학교 성빈센트병원 임상의학 연구비 지원에 의해 이루어졌음.

따라서 최근에 생체 친화적이며 골과의 유착률을 높이고 치료기간이 짧으면서 저작 시에도 강하게 견딜 수 있는 임프란트에 대해 많이 연구되고 있다<sup>3,4)</sup>. 그리고 골유착에 대한 기전이 조직학적으로 밝혀지면서<sup>5,6)</sup> 임프란트 표면을 다양하게 변경시켜 임프란트 주변 골 치유를 개선시키기 위한 연구가 시행되고 있다<sup>7,8)</sup>.

또한 최근에는 조골세포 (osteoblast) 부착을 가능하게 할 수 있는 기질 단백질에 대한 연구가 진행되어<sup>9)</sup> 임프란트 표면에 골형성을 증가시키는 단백질을 고정시킨 후 발생하는 생물학적 변화에 대한 연구도 시도되고 있으며, 임프란트 식립 시 성장인자 (growth factor)를 투여하는 방법에 대한 연구도 시도되고 있다<sup>10,11)</sup>. 그러나 골유착에 대한 분자생물학적 수준의 연구는 많지 않았고 골형성에 관여하는 성장인자와 골기질 단백질 등이 어떻게 발현되며 어떠한 유기적인 결합 후에 골이 형성되어 임프란트 표면과 골유착을 하는지에 대해서는 규명이 되지 않은 상태이다.

따라서 성장인자와 세포의 기질 단백질의 확실한 임상적 적용을 위해서는 임프란트-골 유착에 대한 조직학적 기전과 결부하여 분자생물학적 기전이 규명되어야 한다. 이를 위해 골형성과 관련된 세포의 증식과 분화를 유도하는 것으로 알려진 혈소판유래성장인자 (platelet derived growth factor, PDGF), 인슐린유사성장인자 (insulin like growth factor, IGF- I), 전환성장인자 (transforming growth factor, TGF- $\beta$ ), 섬유아세포성장인자 (fibroblast growth factor, FGF), 골형태형성단백질 (bone morphogenic protein, BMP) 등의 성장인자에 대한 연구들이 활발히 시행되고 있는데 이러한 성장인자들은 골기질에서 발현되고 골조직 대사 조절에서 전신적 조절물질보다 더욱 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>12)</sup>.

그 중에서 TGF- $\beta$ 는 혈소판과 대식세포에서 분리되고 골성조직에 많이 축적되어 있으며 골조직과 결합조직에서 세포의 증식과 기질 합성 능력을 촉진하여 조직손상의 치유에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있으며<sup>13,14)</sup>, 치주 상처부위에 있어서도 세포증식의 다기능조절자로서 다른 세포들의 증식을 촉진시키거나 억제하는 역할을 한다고 알려져 있다<sup>15)</sup>. IGF- I 은 proinsulin과 유사한 구조를 공유하며 I형 교원질과 골기질 합성을 유도하여 골개조 (remodeling)의 생리적인 조절인자로 알려져 있다<sup>16)</sup>.

본 연구의 목적은 임프란트 표면과 골이 유착하는 기간 중에 TGF- $\beta$ 와 IGF- I 과 같은 성장인자가 발현되는지 여부와 어느 정도 발현되는가를 RT-PCR 분석법을 통하여 알아 보고, 조직학적인 소견과 비교하고자 하였다.

## II. 연구방법

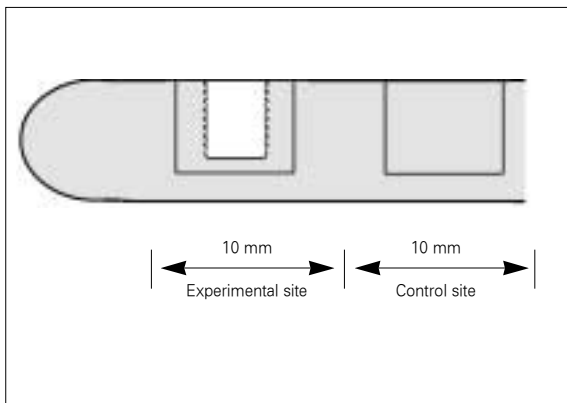
### 1. 실험동물 및 재료

체중 2.5~3 Kg의 가토 8 마리를 암수 구별 없이 실험동물로 사용하여 실온에서 동물용 고형사료와 물을 이용하여 일정기간 사육하였다. 치과 임프란트는 특별 주문 제작한 직경 3 mm, 높이 5 mm의 나선 형태의 표면처리를 하지 않은 타이타늄 동물실험용 임프란트 (오스템, 한국)를 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 표본

좌, 우측 경골 (tibia) 관절면에서 10 mm 거리에 임프란트를 한 개씩 식립하여 식립부위 골을 실험군 (experimen-



**Fig. 1.** A schematic description of the experimental site and untreated control site at the proximal end of the tibia.



**Fig. 2.** Operation  
Periosteum was elevated and machined surface implant was inserted in rabbit tibia.

tal group)으로 하였고 3일군은 E3, 7일군은 E7, 14일군은 E14, 28일군은 E28로 설정하였다. 아무런 처치를 하지 않은 인접골 (식립부에서 원심 방향으로 10 mm 거리)에서 채취한 골을 대조군 (control group)으로 하였으며 3일군은 C3, 7일군은 C7, 14일군은 C14, 28일군은 C28로 설정하였다(Fig. 1).

## 2) 수술방법

전신마취를 위하여 Ketamin HCl (Ketalar, 유한양행, 한국) 30 mg/kg과 Xylazine HCl (Rompun, 바이엘코리아, 한국) 10 mg/kg을 혼합하여 근육주사 하였다. 가토를 양와위로 고정하고 양측 경골 내측부를 제모한 뒤 베타딘 용액을 도포하여 소독하고 국소마취와 지혈 목적으로 1:100,000 epinephrine을 함유한 2% lidocaine HCl (유한양행, 한국)을 피하주사 하였다. 경골 내측부를 절개하고 층별 박리를 통해 경골을 노출시킨 후 경골 관절면에서 10 mm 하방에 임플란트를 식립하였다. 반대쪽도 같은 방법으로 수술하고 생리식염수로 깨끗이 세척한 뒤 3-0 흡수성 봉합사와 비흡수성 봉합사로 층별 봉합한 뒤 모든 동물은 술 후 감염예방과 저작근관으로 인한 영양결핍을 방지하기 위하여 3일간 Gentamicin sulfate (겐타마이신주, 한국유나이티드, 한국) 20 mg/kg과 Cyanocobalamin (빠콤핵사주사, 유한양행, 한국) 2 ml를 근육주사 하였다(Fig. 2).

## 3) 방사선학적 검사

각 시기에 채취된 임플란트 식립부를 치과용 교합필름을 이용하여 일정거리 하에서 65 kvp, 7.5 mA, 25 msec의 조건으로 촬영하여 방사선학적 골치유 양상에 대한 검사를 시행하였다.

## 4) 표본제작

수술 후 3일, 7일, 14일, 28일에 2마리씩 희생시켜 우측 경골부에서 조직형태 계측학적 관찰을 위한 조직표본을 얻었다. 탈회표본 제작을 위하여 채취한 임플란트 식립부 검체를 10% 중성 포르말린에 담구어 고정시켰다. 24시간의 간격을 두고 70%부터 시작해서 90%, 95%, 100%로 알콜의 농도를 증가시키면서 탈수를 시행한 후 glycol-methacrylate 레진을 사용한 포매를 실시하였다. 마지막으로 benzoyl peroxide를 첨가하고 절단 및 연마 장치를 이용하여 최종적으로 두께 50  $\mu$ m의 표본을 만들고 Hematoxylin & Eosin염색을 시행하여 광학 현미경 하에서 조직학적 관찰을 하였고 조직 형태 계측 프로그램 (Kappa image base control 2.3.5, Olympus, Japan)을 이용하여 골-임플란트 접촉률 (나사와 접촉하고 있는 골의 길이 / 임플란트 측면의 나사선 길이  $\times$  100)의 평균값을 구하였다.

## 5) Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Analysis

수술 후 3일, 7일, 14일, 28일에 희생시킨 2마리의 좌측 경골부에서 임플란트를 포함한 직경 7 mm 원통 형태의 골을 채취하여 실험군으로 하였고, 식립부에서 10 mm 떨어진 아무런 처치를 하지 않은 인접골을 부가적으로 채취하여 대조군으로 하였다. 골형성에 관여하는 TGF- $\beta$ 1, IGF I의 발현을 RT-PCR analysis를 이용하여 다음과 같이 검사하였다.

### (1) Total RNA isolation

채취된 골편을 즉시 액화질소에 넣어 급냉시킨 뒤 막자사발에서 잘게 부수고 임플란트는 제거하고 Trizol (Invitrogen Co, USA)를 첨가한 후 1/10배의 chloroform으로 처리하여 상층을 분리하였다. 다음 동량의 isopropanol로 처리하여 pallet을 DEPC-D.W 70% ethanol로 씻은 후 건조시켜 DEPC-D.W에 녹였다.

### (2) cDNA synthesis

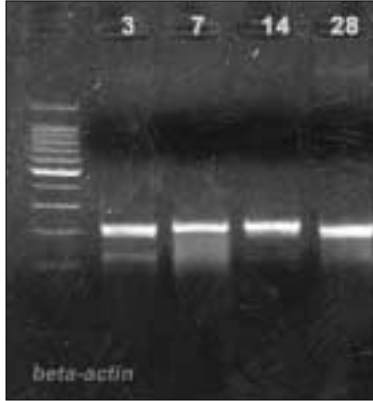
분리된 total RNA를 random primer로 70°C에서 5분간 annealing 후 10 mM dNTPs (Roche Germany), RNasin, AMV (Avian Myoblastosis Virus) reverse transcriptase (Promega, USA), 5  $\times$  buffer (Promega, USA)를 42°C에서 1시간 반응시켰다. cDNA는 260 nm에서 흡광도를 측정하여 reverse transcription reaction을 실시하였다.

### (3) reverse transcription-PCR

정량된 cDNA로 TDMH (670 mM Tris-HCl (pH 8.8), 1% Tween 20, 166 mM ammonium sulphate, 100uM dNTP, 2 mM magnesium chloride buffer, 10 uM sense 및 antisense primer, 1 unit Taq polymerase 및 증류수를 가하여 총량을 25  $\mu$ l로 한 후 58°C에서 30분간 처리한 후 다시 92°C에서 15초, 60°C에서 30초, 72°C에서 30초간 35회 실시한 후 72°C에서 10분간 PCR 반응을 시켰다. Primer sequence는 다음 Table 1과 같았다. mRNA level의 정확한 정량을 위해 human house keeping gene인  $\beta$ -actin으로 확인하였다(Fig. 3). PCR 반응이 종료된 검체 들에서 각 산물을 10 $\mu$ l씩 취하여 6 $\times$ loading buffer (0.25% bromphenol blue, 0.25% xylene cyanol, 30% glycerol in water) 2  $\mu$ l와 혼합하여 2% 한천 겔 (agarose gel)에 100 V에서 30분간 전기영동하고 ethidium bromide로 염색하여 gel document system (Bio-Rad, USA)에서 분석하였다.

**Table 1.** Primer sequences from: Morone: Clin Orthop, Volume (351). June 1998.252-65

Protein	Forward	Reverse	bp
TGF- $\beta$	CGGCAGCTGTACATTGACTT	AGCGCACGATCATGTTGGAC	271
IGF-I	GTACTTCAGAAGCAATGGGA	GGTGCGCAATACATCTCCAG	345



**Fig. 3.** Expression of  $\beta$ -actin.

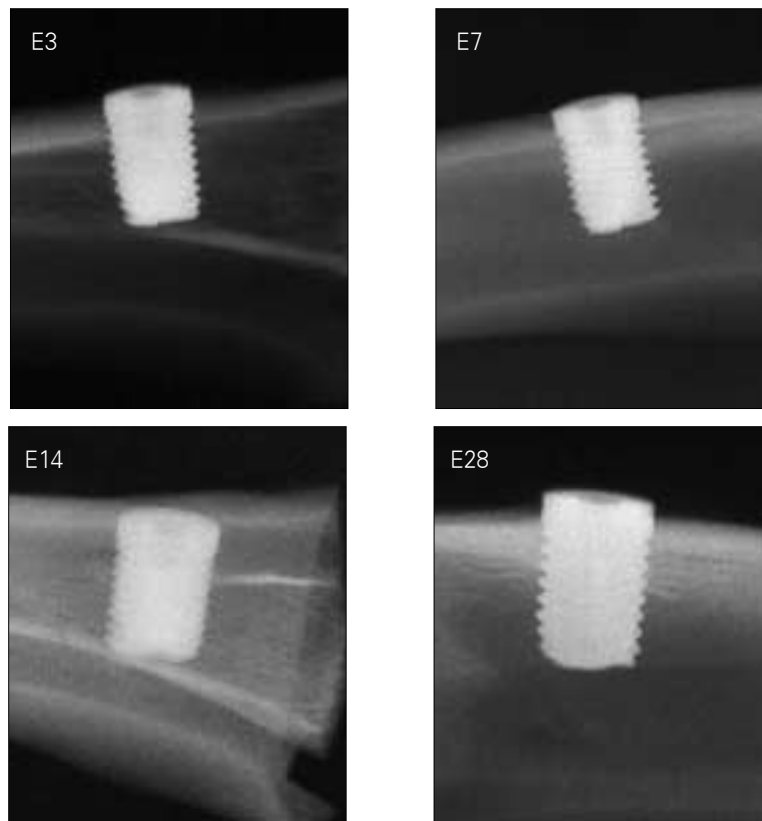
6) Quantitative analysis of PCR-product

각 군에서 발현된 성장인자들의 PCR-product 상을 스캔하여 Quantity one-4.4.1 (BIO-RAD, USA) 프로그램을 이용하여 발현상을 측정하였다. 이때 가장 어두운 부분이 404이었고 가장 밝은 부분이 1253이었으며, 각각의 밝기를 비교하여 발현 상을 수치화 하여 값을 구하였다.

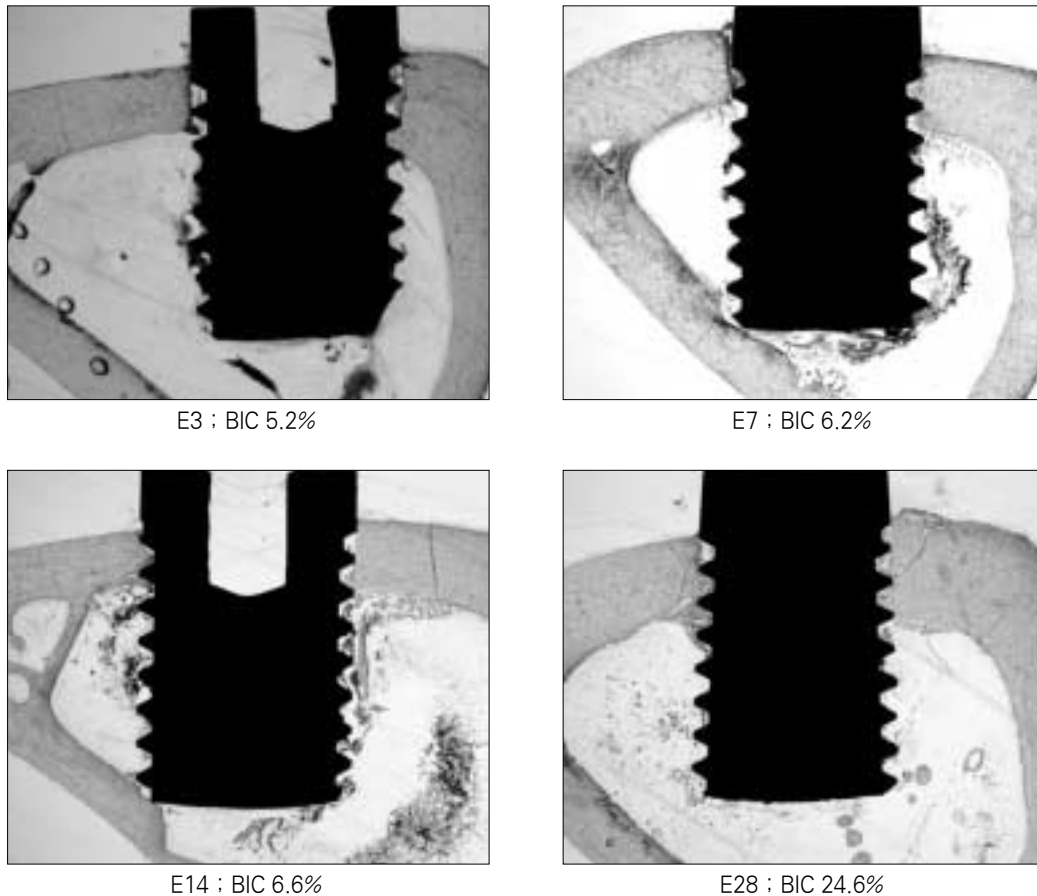
Ⅲ. 연구결과

1. 임상 및 방사선 소견

실험동물은 수술 후 실험기간에 체중 감소 및 감염 등의 특이한 합병증 없이 희생 시까지 건강하게 생존하였다. 또한 방사선 소견 상으로 식립 후 기간이 경과함에 따라 임프란트 나사선 안쪽에 방사선 불투과상의 골이 형성되는 것이



**Fig. 4.** Radiographic features of 3rd, 7th, 14th, 28th day after implantation.



**Fig. 5.** Histomorphometric features  
Percentage of bone-to-implant contact (BIC) at 3rd, 7th, 14th, 28th day after implantation in experimental groups ( $\times 40$ ).

약하게 관찰되었고 임플란트 주위의 염증으로 인한 수직적, 수평적 골파괴 소견 없이 골에 안정적으로 유지되었다(Fig. 4).

## 2. 조직 형태 계측학적 소견

횡단면상의 조직표본에서 전형적인 삼각형의 경골을 나타내고 있으며 임플란트가 식립된 외측 피질골과 내측 골수부위가 관찰되었다(Fig. 5). 각각의 임플란트는 나사선의 상부를 따라 피질골 층과 접촉하고 있었고, 반면에 하부의 나사선은 골수조직과 접촉하고 있었다. 골-임플란트 접촉률은 시간이 지남에 따라 피질골 인접부위 임플란트 표면에서 명백히 나타난다. 또한 골수 내의 임플란트 표면에서도 얇은 층의 신생골이 관찰되었다.

수술 후 3일째 실험군 조직 표본에서는 임플란트 나사선 주변에 골의 손상부위가 관찰되었고 7일째는 미약한 교직골(woven bone) 조직 형성으로 골성회복 소견이 관찰되

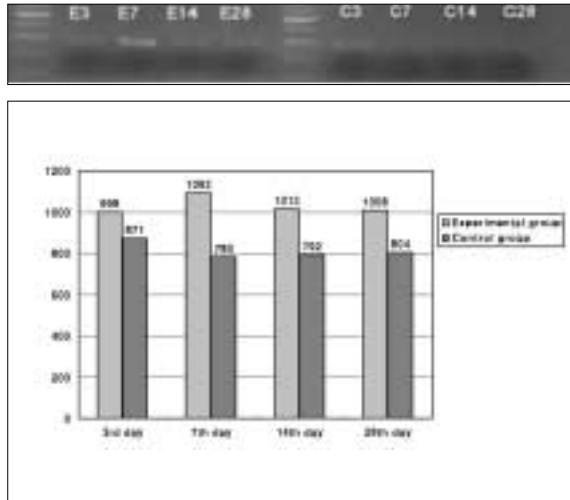
고 있었으며 14일째는 점차적인 골성 회복으로 골수부위까지 신생골이 형성되었고 28일째는 더 많은 신생골이 피질골과 골수부위까지 분포되어 있었으나 골수부위에서 완전한 골성 회복은 이루어지지 않았다.

골과 임플란트 접촉률(BIC)을 측정된 결과는 수술 후 3일째는 5.2%이고 7일째는 6.2%, 14일째는 6.6%, 28일째는 24.6%를 나타냈다.

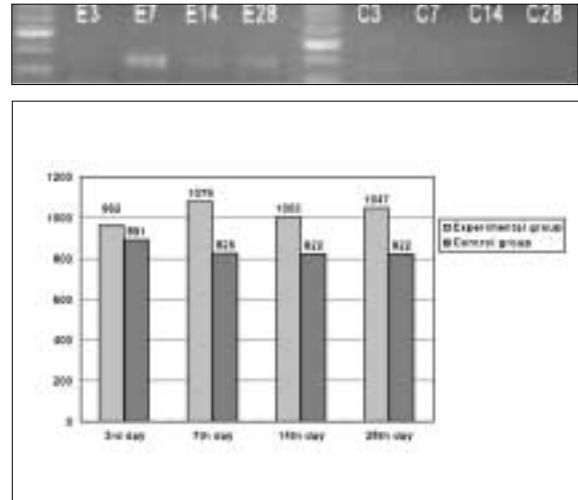
## 3. RT - PCR 소견

TGF- $\beta$  mRNA 발현은 실험군에서 3일, 7일, 14일, 28일에 각각 998, 1093, 1013, 1008로 나타났고 대조군에서는 871, 780, 792, 804 였다(Fig. 6). 실험기간 동안 실험군이 대조군보다 더 높은 발현을 보였으며 실험군의 7일째에 가장 높은 값을 나타냈고 14일째는 다소 감소하였으며 28일째는 14일째와 비슷한 값을 나타냈다.

또한 IGF- I mRNA의 발현은 실험군에서 3일, 7일, 14



**Fig. 6.** Expression of TGF-β by RT-PCR at 3rd, 7th, 14th, 28th day after implantation. TGF-β expressions of experimental group were higher than those of untreated control group.



**Fig. 7.** Expression of IGF-I at 3rd, 7th, 14th, 28th day after implantation. IGF-I expressions of experimental group were higher than those of untreated control group.

일, 28일에 각각 962, 1079, 1003, 1047을 나타냈고 대조군에서는 891, 825, 822, 822를 나타냈다. TGF-β와 마찬가지로 7일째에 가장 높은 값을 나타냈으며 대조군보다 실험기간 동안 더 높은 발현을 보였다(Fig. 7).

#### IV. 고 찰

임프란트를 골에 식립하면 교직골 결합이 임프란트 표면에 나타나는데 토끼에서는 6주정도면 충분히 치밀해지고 골개조가 일어나 부하에 적절히 저항할 수 있다. 임프란트 근처의 초기 가골 반응은 일차적으로 성장인자와 세포외 기질 단백질 등에 의해 유도된다. 즉 식립 초기의 골형성 반응에는 성장인자가 관여하여 조골세포의 증식 (proliferation)과 분화 (differentiation)가 촉진되고 여기에 세포외 기질 등이 발현되면서 진행된다<sup>17)</sup>. 그러나 이러한 성장인자나 세포외 기질 단백질 등이 어떻게 발현되어 임프란트 표면과 골유착을 하는지는 아직 규명이 되지 않은 상태이다.

TGF-β는 섬유아세포에 대한 화학주성과 성장을 촉진하는 능력이 있고 세포외 기질 단백질의 합성을 유도하는 기능을 가지고 있으며 인테그린 수용체를 통하여 세포외 기질과 세포골격의 상호관계에 관여하고 또한 조골세포의 증식과 분화에도 발생학적으로 영향을 미치며 창상치유 과정에서 중요한 역할을 한다<sup>18)</sup>. 이것은 α와 β로 구분되는데 TGF-α는 50개의 아미노산으로 구성된 단일쇄 단백질로서 5.6 KDa의 분자량을 가지며 상피성장인자와 42%의 동질성을 가짐으로써 상피성장인자의 수용체와 경쟁적으로 결합하여 이와 유사한 생물학적 활성을 보이는 것으로 알려져 있으며<sup>19)</sup>

TGF-β는 25 KDa의 분자량을 가지고 이황화 결합으로 연결된 2개의 아미노산 사슬로 이루어져 있다<sup>20)</sup>.

Amento 등<sup>21)</sup>은 TGF-β1을 전신적으로 주입 시 창상치유를 일으킨다고 보고하였고 Beck 등<sup>22)</sup>은 1 μg이하의 TGF-β를 국소적으로 주입 시 두개골 결손부가 완전히 치유된 것을 보고하였다. 또한 임프란트를 식립할 때 TGF-β를 주입하는 연구와 임프란트 식립 후 TGF-β 발현에 대한 연구도 있었다. 즉 타이타늄 임프란트를 minipig 하악골에 식립 시 rhTGF-β1을 주입하면 임프란트 주위의 골치유가 향상됨을 보여주었고<sup>23)</sup> 임플란트 피개의치 환자에서 임플란트 식립 시부터 보철물 장착 12개월까지 임프란트 주위 연조직의 TGF-β1 발현을 조사한 결과 식립 시보다 식립 후에 높아짐으로써 TGF-β1이 골유착에 관여하고 있다는 보고가 있으며<sup>24)</sup> 또한 임프란트 표면 거칠기가 증가되면 조골세포에 의해 PGE2 (prostaglandin E2), TGF-β1이 증가되었다는 보고가 있다<sup>25)</sup>.

본 실험에서도 TGF-β의 발현은 아무런 처치를 하지 않은 대조군보다 높은 발현 양상을 보여 TGF-β가 골유착에 관여함을 알 수가 있었다. Ogawa 등<sup>26)</sup>이 쥐의 대퇴골에 임프란트 식립 후 TGF-β의 발현을 연구한 결과 4주보다는 2주에서 높은 발현을 보였다. 이번 연구에서는 3일, 14일, 28일보다 7일째에 가장 높은 값을 보여주었는데, 이는 골 치유 초기에 좀 더 발현됨을 나타낸다. 생체 내에서 rhTGF-β 주입은 골형성을 자극하고, 실험실에서 TGF-β는 세포증식은 자극하지만 조골세포 성장과 골 소결절 (bone nodule) 형성을 억제한다<sup>27)</sup>. 그래서 생체에서 TGF-β에 의한 골형성은 조골세포의 분화에 의해서보다는 조골세포 전구세포의 증

식을 자극하여 생긴 결과로 이해된다.

IGF는 세포의 성장과 기능 조절에 중요한 역할을 하고 체 조직 대부분에 존재하는 약 7.5 KDa인 단일쇄 단백질이다<sup>28)</sup>. 혈장내에 존재하여 순환하는 IGF는 주로 간에서 생성되지만 조직 내에 있는 IGF는 연골과 골조직을 포함하는 다른 여러 조직에서 생성, 분화되어 국소적으로 작용한다고 보고되고 있다<sup>29)</sup>. IGF-I과 IGF-II가 있으며 IGF-I은 간장, 심장, 폐장, 췌장, 뇌 그리고 근육에서 발견되고 IGF-II는 많은 조직에서 생성되나 특히 태아발달과정에서 증가하는 것으로 보아 태아성장에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다<sup>30)</sup>. 조골세포에 의해서 IGF-I이 생산된다는 것이 발표되었는데 그러한 생산은 골대사에 국소적으로 영향을 줄 수 있다<sup>31)</sup>. 세포복제만 증가시키는 PDGF와는 달리 IGF-I은 세포복제 및 I형 교원질의 생산을 증가시키고 교원질 저하 (degradation)를 감소시키는 양성 동화 (positive anabolic)와 음성 이화 (negative catabolic) 효과를 갖는다<sup>32)</sup>. Hock 등<sup>16)</sup>은 IGF-I이 세포증식과 세포의 기질 합성을 촉진하므로 골형성을 증가시킨다고 보고하였다. 본 연구에서도 골형성에 관여한다는 증거를 보여주었는데 표면처리를 하지 않은 타이타늄 임플란트 식립후 IGF-I의 발현은 대조군보다 높은 발현을 나타내는 것으로 보아 IGF-I 또한 TGF- $\beta$ 와 마찬가지로 임플란트-골 유착에 관여함을 유추할 수 있었다.

조직 형태 계측학적 연구 결과는 시간이 지남에 따라 나사선 주위에 신생골 형성이 증가하여 골-임플란트 접촉이 증가함을 보여준 반면에 TGF- $\beta$ 와 IGF-I의 발현은 시간에 따라 계속 증가하지는 않고 대조군보다 높은 값을 나타내며 유지되었다. 이는 두 가지 성장인자 mRNA가 생체 내에서 일정하게 조절되어 골유착에 관여함을 알 수 있었다. 7일째에 TGF- $\beta$ 와 IGF-I의 발현이 다소 높은 값을 나타내었는데 교직골 형성의 초기 골 치유를 위해 성장인자가 많이 발현되었으리라 생각된다. 이러한 교직골은 골유착 임플란트의 초기 치유기간의 안정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>17)</sup>.

본 실험의 대조군에서도 TGF- $\beta$ 와 IGF-I이 어느 정도 발현됨이 관찰되었는데 이는 임플란트를 식립한 부위의 인접한 조직을 대조군으로 채취하여 mRNA 발현을 조사한 결과 식립한 부위의 골치유를 향상시키기 위하여 인접한 부위에서도 이러한 TGF- $\beta$ 와 IGF-I이 발현된 것으로 생각할 수 있겠다.

이번 실험은 4주 동안 조직 형태 계측학적, RT-PCR적 검사를 하였는데 향후 더 긴 기간의 실험이 필요하며, 개체 수를 더 늘린 통계학적 검증이 요구된다. 또한 TGF- $\beta$ 와 IGF-I 이외의 다른 골 성장인자나 세포의 기질 단백질, 국소 매개인자 등의 발현에 대한 임플란트 식립의 효과, 임플란트 표면형태 차이에 따른 효과가 추가적으로 연구되어 골

유착의 분자생물학적 기전이 밝혀져야 할 것이다.

임플란트 식립 후 나사선 주위에 신생골이 점차 형성되어 가는 동안 임플란트를 식립하지 않은 대조군과 비교해 본 결과 임플란트 식립 그 자체만으로 성장인자 유전자 발현이 증가됨을 보였다. 이러한 유전자 발현의 증가는 골-임플란트 접촉률의 증가와 연관되어 있을 것이다.

이러한 자료는 임플란트 식립에 따른 생물학적 조직반응의 차이가 존재한다는 증거를 제공하였으며, 조직과 임플란트 유착에 있어서 분자생물학적 과정을 이해하는데 도움이 되었다. 또한 임플란트 식립 시 TGF- $\beta$ 와 IGF-I의 국소투여 효과 가능성에 대한 이론적 근거를 제시하였다.

## V. 결 론

이 연구의 목적은 골과 임플란트 사이에 유착이 일어나는 동안 TGF- $\beta$ 와 IGF-I 관련 유전자의 발현 정도를 살펴보는 것으로서 8마리의 가토 경골에 표면처리를 하지 않은 타이타늄 임플란트를 식립하고 그 후 3일, 7일, 14일, 28일에 임플란트 식립부위와 식립하지 않은 인접골 부위에서 TGF- $\beta$ 와 IGF-I 유전자의 발현 정도를 RT-PCR을 사용하여 검사하였으며, 동시에 조직학적인 소견과 비교하였다.

골-임플란트 접촉률은 3, 7, 14, 28일에 각각 5.2%, 6.2%, 6.6%, 24.6%로 나타났다. 이것은 임플란트 식립 후 골수 안의 임플란트 표면에서 신생골이 증가됨을 나타낸 것이다. TGF- $\beta$ 와 IGF-I의 발현은 실험기간 동안 아무런 처치를 하지 않은 대조군보다 실험군에서 더 높은 값을 나타내었다.

TGF- $\beta$ 와 IGF-I 유전자 발현의 증가는 골-임플란트 접촉률의 증가와 연관되어 있을 것으로 생각되며, 이러한 연구 결과는 임플란트 식립에 따른 생물학적 조직반응의 차이가 존재한다는 증거를 제공하였고, 조직과 임플란트 유착에 있어서 분자생물학적 과정을 이해하는데 도움이 되었다.

## 참고문헌

1. Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T : Tissue Integrated Prostheses: Osseointegration in clinical Dentistry. London, Quintessence, 1985, p.11.
2. Van Steenberghe D : A retrospective multicenter evaluation of the survival rate of osseointegrated fixtures supporting fixed partial prostheses in the treatment of partial edentulism. J Prosthet Dent 61 : 217, 1989.
3. Spyrou P, Papaioannou S, Hampson G : Cytokine release by osteoblast like cells cultured on implant discs of varying alloy composition. Clin Oral Impl Res 13 : 623, 2002.
4. Buzza EP, Shibli JA, Barbeiro RH et al : Effects of electromagnetic field on bone healing around commercially pure titanium surface: histologic and mechanical study in rabbits. Implant Dent 12 : 182, 2003.
5. Clokie CM, Warshawsky H : Morphologic and radioauto-

- graphic studies of bond formation in relation to titanium implants using the rat tibia as a model. *J Oral Maxillofac Implants* 10 : 155, 1995.
6. Davies JE : Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 67 : 932, 2003.
  7. Schneider GB, Perinpanayagam H, Clegg M et al : Implant surface roughness affects osteoblast gene expression. *J Dent Res* 82 : 372, 2003.
  8. Ogawa T, Nishimura I : Different bone integration profiles of turned and acid-etched associated with modulated expression of extracellular matrix genes. *Int J Oral Maxillofac Implants* 18 : 200, 2003.
  9. Cooper LF : Biologic determinants of bone formation for osseointegration: clues for clinical improvements. *J Prosthet Dent* 80 : 439, 1998.
  10. Koka S, Vance JB, Maze G : Bone growth factors. Potential for use as an Osseointegration enhancement technique. *Periodont Abstr* 43 : 97, 1995.
  11. Stenport VF, Johansson CB, Sawase T et al : FGF-4 and implants: a pilot study in rabbit bone. *Clin Oral Impl Res* 14 : 363, 2003.
  12. Canalis E : Growth factors and this regulation of bone remodeling. *J Clin Invest* 81 : 277, 1988.
  13. Ignatz RA, Endo T, Massague J : Regulation of fibronectin and type I collagen mRNA levels by transforming growth factor- $\beta$ . *J Biol Chem* 262 : 6443, 1987.
  14. Pfeilschifter J, Oechsner M, Naumann A et al : Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors : a comparison between insulin-like growth factor I, platelet derived growth factor, and transforming growth factor  $\beta$ . *Endocrinol* 127 : 69, 1990.
  15. Roberts AB, Sporn MB : The transforming growth factor- $\beta$  s. In : Sporn MB, Robert AB eds. *Peptide growth factors and their receptors*. Berlin Springer-Verlag, 1990, p.419.
  16. Hock JM, Centrella M, Canalis E : Insulin-like growth factor I has Independent effects on bone matrix formation and cell replication. *Endocrinology* 122 : 254, 1988.
  17. Misch CE. 김명래 외 역 : 최신 임플란트 치과학 제2판. 나래출판사, 2000, p.237.
  18. Ignatz RA, Massague J : Transforming growth factor  $\beta$  stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J Biol Chem* 261 : 4337, 1986.
  19. Derynck R : Transforming growth factor and transforming growth factor  $\alpha$ : Structure and biological activities. *J Cell Biochem* 32 : 293, 1986.
  20. Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM et al : Transforming growth factor- $\beta$ : Biological function and chemical structure. *Science* 233 : 532, 1986.
  21. Amento EP, DeGuzman L, Lee WP : The systemic administration of TGF- $\beta$ 1 accelerates wound healing. *J Cell Biochem* 15F : 191, 1991.
  22. Beck LS, DeGuzman L, Lee WP : TGF- $\beta$  induces bone closure of skull defects. *J Bone Min Res* 6 : 1257, 1991.
  23. Clokie CM, Bell RC : Recombinant human transforming growth factor and its effects on osseointegration. *J Craniofac Surg* 14 : 268, 2003.
  24. Schieran G, Bassi F, Gassino G et al : Cytokine production and bone remodeling in patients wearing overdentures on oral implants. *J Dent Res* 79 : 1675, 2000.
  25. Kieswetter K, Schwartz Z, Hummert TW et al : Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells. *J Biomed Mater Res* 32 : 55, 1996.
  26. Ogawa T, Sukotjo C, Nishimura I : Modulated bone Matrix-related gene expression is associated with differences in interfacial strength of different implant surface roughness. *J Prosthodont* 11 : 241, 2002.
  27. Harris SE, Bonewald LF, Harris MA et al : Effect of transforming growth factor beta on bone nodule formation and expression of bone morphogenetic protein 2, osteocalcin, osteopontin, alkaline phosphatase, and type I collagen mRNA in long-term cultures of fetal rat calvarial osteoblasts. *J Bone Minor Res* 9 : 855, 1994.
  28. Hollberg MD : Receptors for insulin and other growth factor. Rationale for common and distinct mechanism of cell action. *Clin Invest Med* 10 : 458, 1987.
  29. Canalis E, MacCarthy TL, Centrella M : The role of growth factors in skeletal remodeling. *Endocrinol Met Clin North Am* 18 : 903, 1989.
  30. Froesch ER, Schmid C, Scheander J : Action of insulin-like growth factors. *Ann Rev Physiol* 47 : 443, 1985.
  31. Ernst M, Froesch ER : Growth hormone-dependent stimulation of osteoblast-like cells in serum-free cultures via local synthesis of insulin-like growth factor. *Biochem Biophys Res Commun* 151 : 142, 1988.
  32. McCarthy TL, Centrella M, Canalis E : Regulatory effects of insulin-like growth factor I and II on bone collagen synthesis in rat calvarial cultures. *Endocrinology* 124 : 301, 1989.

#### 저자 연락처

우편번호 442-060  
경기도 수원시 팔달구 지동 93  
가톨릭대학교 성빈센트병원 치과  
송현철

원고 접수일 2004년 8월 30일  
게재 확정일 2004년 12월 16일

#### Reprint Requests

Hyun-Chul Song  
Dept. of Dentistry, St. Vincent's Hospital, The Catholic Univ. of Korea, 93 Ji-Dong, Paldal-Ku, Suwon, 442-060, Korea  
Tel : 82-31-249-7670 Fax : 82-31-258-3352  
E-mail : omsjyj@kornet.net

Paper received 30 August 2004  
Paper accepted 16 December 2004