

다공성 티타늄 임플란트의 생리활성물질 담지특성에 관한 연구

김 영 훈

원광보건대학교 치기공과

A study of loading property of the bioactive materials in porous Ti implants

Yung-Hoon Kim

Department of Dental Laboratory Technology, Wonkwang Health Science University

[Abstract]

Purpose: Surface modification is important techniques in modern dental and orthopedic implants. This study was performed to try embedding of bioactive materials in porous Ti implants.

Methods: Porous Ti implant samples were fabricated by sintering of spherical Ti powders in a high vacuum furnace. It's diameter and height were 4 mm and 20 mm. Embedding process was used to suction and vacuum chamber. Loading properties of porous Ti implants were evaluated by scanning electron microscope(SEM), confocal laser scanning microscope(CLSM), and UV-Vis-NIR spectrophotometer.

Results: Internal pore structure was formed fully open pore. Average pore size and porosity were 10.253 μ m and 17.506%.

Conclusion: Porous Ti implant was fabricated successfully by sintering method. Particles are necking strongly each other and others portions were vacancy. This porous structure can be embedded to bioactive materials. Therefore bioactive materials will be able to embedding to porous Ti implants. Bioactive materials embedding in the porous Ti implant will induced new bone faster.

○Key words : bioactive materials, embedding, implant, porous, rh-BMP2, sintering, Ti

* 본 연구는 2013년도 원광보건대학교 교내연구비 지원에 의해서 이루어진 논문임.

교신저자	성명	김 영 훈	전화	063-840-1244	E-mail	kimyh@wkhc.ac.kr	
	주소	전북 익산시 신용동 344-2 원광보건대학교 치기공과					
접수일	2013. 9. 9		수정일	2013. 11. 27		확정일	2013. 12. 17

I. 서론

치과용이나 정형외과용으로 사용되는 임플란트에서 표면처리는 상당히 중요한 기술로 평가되고 있다. 대부분 임플란트의 원소재로는 티타늄 또는 티타늄 합금 등이 주로 사용되어져 왔으며 이는 원소재의 생체적합성에 큰 비중을 두고 있다. 티타늄의 생체적합성은 안정된 부동태 피막에 의한 것으로 이 부동태 피막이 생체와 이루는 계면이 골유착에 중요하다고 보고 되고 있으며 티타늄과 티타늄 합금은 넓은 면적을 갖는 임플란트에 가장 적합한 재료라고 알려져 있다(Ahn, 2005). 그러나 여기에 멈추지 않고 표면개질에 관한 연구는 꾸준히 진행되고 있다. 접촉 면적을 늘리는 방법으로 Ti 플라즈마 분사법, 산 부식법, 샌드 블라스팅법, 양극산화법, 열산화법이 있고 불활성의 Ti 표면에 활성을 부여하기 위한 코팅법, 이온빔 주입법, 용액 침적법 등이 보고되어 있으며(Choi et al., 2003) 복합 표면처리에 관한 연구도 활발히 진행 중이다(Cho et al., 2008). 이와같이 초기에는 임플란트의 면적을 넓혀 결합계면을 증가시키는 표면처리법이 주를 이루었으나 임플란트 재료로서 티타늄은 생체활성(bioactive)이 없기 때문에 이후에는 원소재의 특성인 생체불활성을 넘어서 Hydroxy apatite(HA)와 같은 생체활성물질을 코팅하기에 이르렀다. 그러나 표면에 코팅된 생체활성물질은 코팅되는 양에 한계가 있고 고온의 코팅공정에서 생체활성물질의 변성이 염려되며, 임플란트와 생체활성물질 간의 결합력도 약할뿐 아니라 단시간에 생체내로 흡수되어 그 효과의 지속성이 떨어지는 단점이 있으며(Zhao et al., 2006), 이러한 부착체제는 주로 무기질로서 단백질인 BMP-2 등에 비해 골형성 능력이 떨어진다고 보고되었다(Lee et al., 2009).

최근에는 골형성 단백질(Bone Morphogenetic Protein, BMP)이 관심을 끌고 있는데, 현재까지 다양한 recombinant human BMP를 생산할 수 있게 되었으며 특히 구강 악안면 영역에서 많은 임상실험들이 보고되었다(Kim et al., 2008). 생산된 BMP의 대부분은 액상 또는 냉동처리된 고상으로 판매되고 있기 때문에 금속 임플란트와의 융합 보다는 콜라겐 지지체 내지는 polymer 융합 계통의 골조직 지지체로써 많은 연구가 수행중이며

(Jansen et al., 2005), 뛰어난 신생골 유도효과들이 보고되고 있다. 이에 본 연구에서는 내부가 완전히 연결된 개기공의 구조를 갖는 다공성 티타늄 임플란트를 제조하고 그 내부 공간에 BMP와같은 생리활성물질의 담지가 가능한지의 여부와 금속 임플란트에 대해서도 생리활성물질 융합소재로서의 개발이 가능한지 알아보고자 한다.

II. 연구 방법

1. 다공성 티타늄 임플란트 담지체 제작

실험에 사용한 시편은 50 μ m 이하의 지름을 갖는 구형의 순수 티타늄(cp Ti, Gr.2) 분말(TLS Technik, Germany)을 내경이 4mm인 석영(quartz)관에 20mm 높이까지 채우고 고진공(10-7torr) 전기로에서 5 $^{\circ}$ C/min의 승온속도로 900 $^{\circ}$ C까지 온도를 상승시켜 2h 동안 유지시키고 로냉한 다음 석영관에서 시편을 분리하고 다시 고진공 전기로에서 5 $^{\circ}$ C/min의 승온속도로 1,200 $^{\circ}$ C까지 온도를 상승시켜 2h 동안 유지한 뒤 서냉하는 2차 소결법에 의해 제작하였다. 시편의 형태는 단순한 디자인의 치과용 임플란트와 유사한 지름 4mm, 높이 20mm의 원기둥 형태로 총 40개 제작하였다.

2. 평균 기공크기 및 내부 기공과의 연결성

다공성 티타늄 임플란트 담지체를 hot & cold mounting하여 금속조직학적 연마 방법에 따라 순차적으로 표면연마를 실시하고 표면 양상을 주사전자현미경(S-4,700, HITACHI, Japan)으로 관찰하였으며, 평균 기공크기 및 기공을 등은 수은 주입에 의한 기공을 측정기(Auto PoerIV, Micromeritics, USA)를 사용하여 확인하였다.

3. 생리활성물질 담지

담지체 내부에 생리활성물질의 담지가 가능한지 여부를 파악하기 위해 먼저 GFP(Green Fluorescence Protein)를 담지하여 공초점레이저주사현미경(CLSM)으로 관찰하였다. 생리활성물질로는 최근에 많은 연구와 보고가 되어있는 rhBMP-2를 선택하여 담지하였고, 담지량은

UV-Vis-NIR Spectrophotometer를 사용하여 측정하였다.

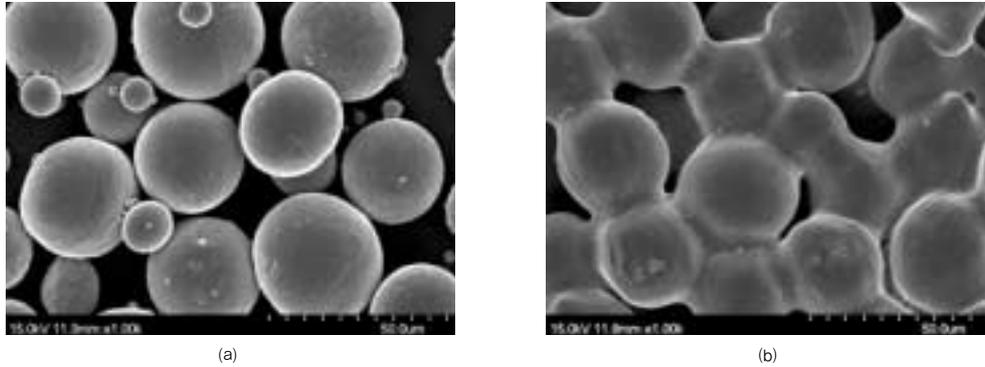


Fig. 1. SEM images of Ti powder(a) and sintered body(b)

III. 결 과

다공성 티타늄 임플란트 담지체는 고진공 전기로에서 2차 소결법을 통하여 지름 4mm에 길이 20mm의 크기로 제작되었으며 소결 전의 구형 티타늄 분말들은 석영관 내에 충전되어 인접한 입자간에 적절한 neck을 형성하여 튼튼한 소결체를 이루고 있음을 확인하였다(Fig. 1). 시편을 resin hot mounting한 다음 금속조직학적 연마과정을

통해 단면을 관찰한 결과 <Fig. 2.(a)>에서와 같이 담지체 내부에 기공이 전혀 보이지 않았다. 이는 기공의 크기가 너무 작아 연마과정에서 삭제된 티타늄 입자들이 채워진 것으로 판단되어 hot mounting용 resin의 용융온도를 100℃에서 125℃로 약 25℃ 가량 높이고 3000psi의 압력을 가함으로써 일정한 깊이까지 resin을 침투시킬 수 있었으며 내부 다공성 연결구조를 확인할 수 있었다(Fig. 2.(b)).

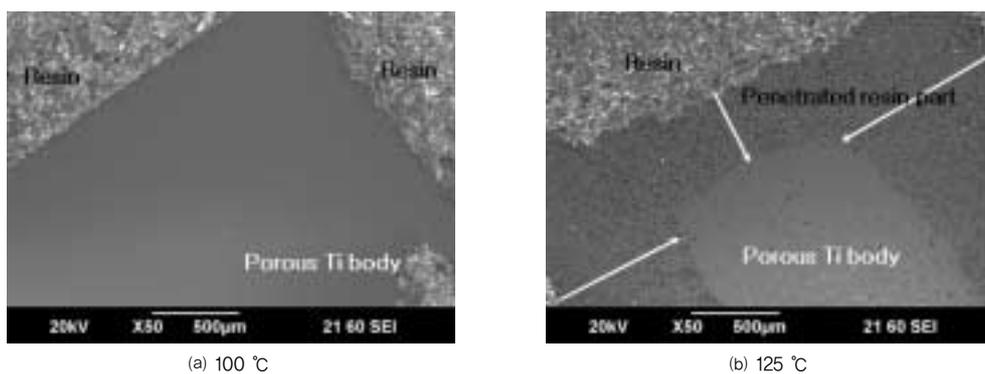


Fig. 2. Sectional images of hot mounted samples by setting temperature

Hot mounting 방식은 resin을 용융시키고 압력을 가한 상태에서 냉각시키게 되지만 cold mounting 방식은 단순히 액상의 폴리카보네이트에 경화제를 혼합하여 시편의 주위를 채워 경화하게 되므로 담지체의 내부기공까지 채워

지기 어렵다. Fig. 3.은 suction법으로 용융된 paraffin wax를 담지한 후 cold mounting한 시편의 연마된 단면을 보여준다. paraffin wax가 연한 재질이기 때문에 부분적으로 연삭된 티타늄 입자들에 의해 기공이 매워지기

도 했지만 관찰되는 기공들에서는 모두 paraffin wax가 담지된 것을 확인할 수 있었다.

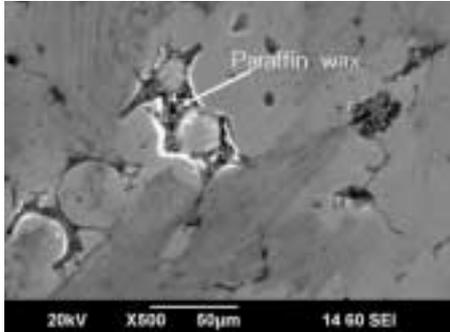


Fig. 3. Residual paraffin wax in the inter pore site

다공성 티타늄 임플란트 담지체에 수은을 주입하여 기공을 및 평균 기공크기를 측정된 결과는 <Table 1>에 나타내었으며 기공크기의 분포는 <Fig. 4>에 나타내었다.

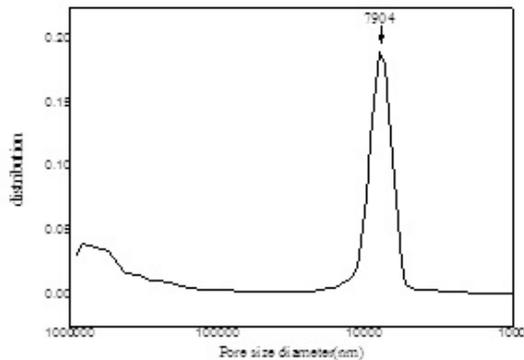


Fig. 4. Distribution patterns of pore size

가장 많이 분포하고 있는 기공의 크기는 7,904 μm 였으며, 평균 기공크기는 10,253 μm 그리고 기공율은 17.506% 였다.

Table 1. Average pore diameter & porosity

Intrusion data	measurement
Total pore area	0.023 m ² /g
Average pore diameter	10,253 μm
Open porosity	17.506%

생리활성물질로 선택한 rhBMP-2는 무색 투명하기 때문에 육안으로는 담지가 되었는지 확인하기가 어렵다. 이를 보완하기 위해 본 실험에서는 녹색 형광 단백질(GFP)을 담지하여 다공성 티타늄 임플란트 담지체의 내부까지 균일하게 GFP(Green Fluorescent Protein)가 담지 되는지 확인하였다. 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 GFP 용액을 suction 방법을 이용하여 시편에 담지하고 진공 챔버에서 30분간 침지한 채로 유지하였다. 24시간 후 CLSM(C1 PLUS, NIKON, USA)으로 GFP가 담지된 시편의 표면과 절단면 그리고 파절면들을 관찰하였다. <Fig. 5(a)>는 시편의 표면으로 GFP가 확연히 드러났으나 <Fig. 5(b)>에서와 같이 절단면에서는 절단용 디스크와의 마찰과 냉각수에 의한 세척효과로 인하여 GFP가 절삭흔의 형태로 나타났다. <Fig. 5(c)>는 시편을 절단하지 않고 파절시켜 초점이 잡히는 부분들만 관찰한 결과로 시편의 모든 부분에서 GFP가 담지된 양상을 확인할 수 있었다.

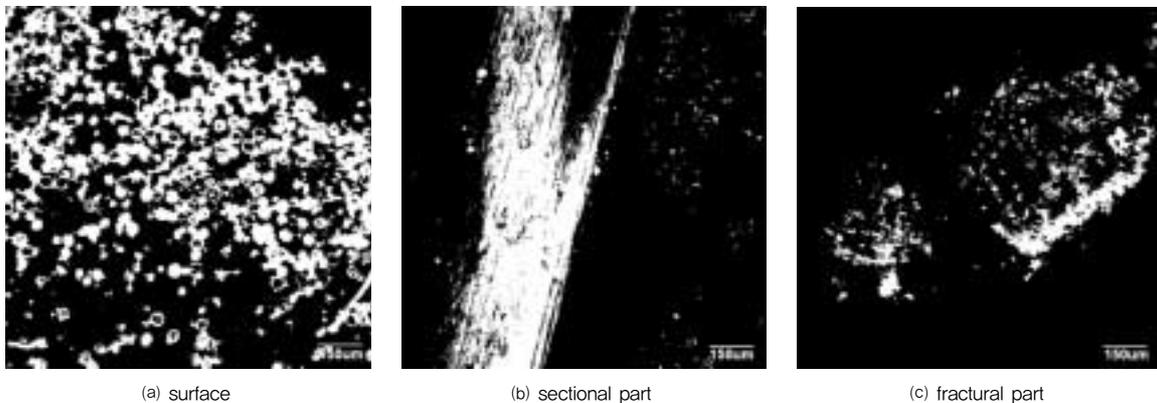


Fig. 5. CLSM images of GFP embedded in porous Ti implant

rhBMP-2(GENOSS)를 Phosphate Buffer Solution (PBS)에 300 μ g/ml의 농도로 희석하였고 다공성 티타늄 임플란트 시편에 담지하였다. 최대한 많은 양을 담지하기 위해 GFP와 마찬가지로 1차 담지는 suction법, 2차 담지는 rhBMP-2 용액에 시편을 침지한 상태로 진공챔버에 유지하는 방법을 사용하였다. rhBMP-2가 담지된 시편은 3ml의 PBS가 담긴 바이알 병에 넣고 37 $^{\circ}$ C의 항온기에 보관하였다. 6일 동안 매 24시간마다 용출된 rhBMP-2

의 양을 UV-Vis-NIR Spectrophotometer (UV1012M254, USA)를 이용하여 검출하였으며 시편은 3ml의 새 PBS 용액으로 교환하였다. 300 μ g/ml의 농도로 희석된 rhBMP-2 용액은 275nm의 파장에서 3.3270의 흡광도를 나타내었으며 이는 희석용액의 오차를 감안할 때 300 μ g/ml의 농도에서 3.0 정도의 흡광도를, 20 μ g/ml의 농도에서 0.2 그리고 100 μ g/ml의 농도에서 0.1의 흡광도를 보이며 지수적으로 감소하는 것을 알 수 있었다.

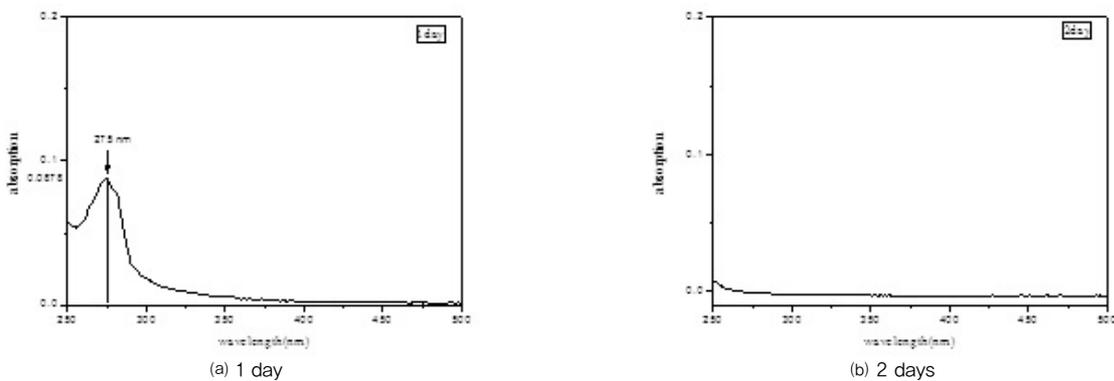


Fig. 6. UV absorption peak

rhBMP-2를 담지하고 1 day 후에 UV를 측정된 결과 0.0878의 흡광도를 보였으며 2 days 이후로는 아무런 peak가 나타나지 않았다. 따라서 시편 내부에서 방출된 rhBMP-2는 약 8 μ g/ml의 농도임을 알 수 있으며 담지량은 24 μ g으로 하루만에 모두 방출된 것으로 판단된다.

IV. 고 찰

임플란트가 하중을 지지하는 용도가 아니라면 석고로 충전하여도 성공적인 골의 복구가 일어나지만 기능적 하중을 받는 용도라면 강한 골유착과 높은 기계적 강도를 필요로 한다 (Oh et al., 1998). 생체 친화성 (biocompatibility)이 좋은 티타늄을 임상에 적용하기 시작한 것은 골유착(osseointegration)의 개념이 형성된 1965년부터 이다(Lee et al., 2009). 그러나 티타늄은 생체불활성으로 신생골 형성이 느리고 치유기간이 길며 탄성율이 인간의 피질골보다 훨씬 높기 때문에 응력차폐현

상에 의한 주변 골의 손실을 일으킬 수 있다. 이를 보완하기 위하여 티타늄 표면에 생체활성을 부여하기 위한 표면 개질 등의 연구가 지속적으로 이루어지고 있지만 현재로서는 친수성을 높이거나 생리활성물질을 임플란트 표면에 적셔서 식립하는 등에 머물러 있다. 구형의 티타늄 분말을 소결하여 제조한 다공성 티타늄 임플란트는 탄성율을 인간의 피질골과 유사한 범위까지 낮출 수 있으며 내부에 형성되어있는 다공층에는 생리활성물질을 담지할 수 있고, 임플란트 표면에 형성된 기공들은 골모세포가 부착하여 증식하기에 유리한 환경을 제공할 수 있다. 본 연구에서는 담지된 생리활성물질이 하루만에 모두 방출되는 결과를 보였는데 이를 폴리도파민 코팅 등의 방법으로 좀더 보완하여 서서히 방출시킬 수 있도록 한다면 골유착에 소요되는 시간과 치유기간을 더욱 단축시키고 임플란트 시술의 성공률을 높일 수 있을 것이며, 골 손실이 큰 환자나 골질이 좋지 않은 환자들도 임플란트 시술을 받을 수 있게 될 것이다.

V. 결 론

하중을 받는 부분에 식립될 임플란트는 인간의 피질골과 유사한 물리적 기계적 특성을 가져야 하며, 화학적으로는 생체불활성 그리고 생물학적으로는 생체활성까지 필요로 한다. 임플란트 소재로 많이 사용되는 티타늄은 물리적 기계적 특성이 우수하고 생체불활성을 지닌다. 이러한 티타늄 원소재에 미분화간엽세포를 골모세포로 분화시키는 골 유도성과 다공성 표면으로의 골 전도성을 증진시킨다면 모든 장점을 갖춘 임플란트가 개발될 수 있을 것이다.

1. 다공성 티타늄 임플란트 담지체

다공성 티타늄 임플란트 담지체는 50 μ m 이하의 구형 티타늄 분말을 소결하여 지름 4mm, 높이 20mm의 원통형으로 제조하였으며, 인접한 티타늄 입자간에 단단한 neck을 형성하였다.

2. 평균 기공크기 및 내부 기공과의 연결성

평균 기공크기는 10.253 μ m 그리고 기공율은 17.506%였다. 액체가 다공성 임플란트 시편을 통과한다는 것은 내부의 기공들이 부분적으로 연결되어 있음을 의미한다.

3. 생리활성물질 담지

GFP가 시편 내부에 골고루 분포하는 것을 확인하였으며, rhBMP-2 담지량은 24 μ g이었다.

REFERENCES

Ahn YB. Studies of porous Ti-6Al-4V implant prototype fabricated by electro-discharge-sintering, Dept. of Advanced Materials Engineering, Graduated School, Sejong University, 2004.

Cho YJ, Kim YH, Jang HS, Kang TJ, Lee WH. A Study of Multi-Surface Treatments on the Porous Ti Implant for the Enhancement of

Bioactivity. *J. Mater. Res.*, 18(5), 229-234, 2008.

Choi WH, Lee YS, Kim DH, Kwon YH, Bae TS. Characterization of Titanium Oxide Films Containing Ca and P by Anodic Spark Deposition. *J. Korean Res. Soc. Dent. Mater.*, 30(1), 47-54, 2003.

Jansen JA, Vehof JWM, Ruhe PQ, Kroeze-Deutman H, Kuboki Y, Takita H, Hedberg EL, Mikos AG. Growth factor-loaded scaffolds for bone engineering. *Journal of Controlled Release*, 101, 127-136, 2005.

Kim CH, Park CH, Lee IK, Pyo SW. OSTEOGENESIS BY BMP-2 IN ADULT STEM CELL DERIVED FROM BUCCAL FAT PAD. *The journal of the korean association of oral maxillofacial surgeons*, 34, 412-418, 2008.

Lee KM, Park SW, Lim HP, Koh JT, Kang SS, Kim HS, Park KB, Ryoo GH, Lee KK, Lee DJ. A Recent Research and Development Tendency of Dental Titanium Implant, *Trend in Metals & Materials Engineering*, 22(4), 33-40, 2009.

Oh KT, Kim CS, Khang G, Park YS. Porous S32050-coated Implant for Biological Fixation, *Biomaterials Research*, 2(3), 122-133, 1998.

Zhao YT, Zhang Z, Dai QX, Lin DY, Li SM. Microstructure and bond strength of HA(+ZrO₂+Y₂O₃)/Ti6Al4V composite coatings fabricated by RF magnetron sputtering. *Surface & Coating Technology*, 200(18-19), 5354-5363, 2006.