



<Review Article>

ISSN 2288-8403(Online)

한국표면공학회지

J. Surf. Sci. Eng.

Vol.57, No.4, 2024.

<https://doi.org/10.5695/JSSE.2024.57.4.234>

## 골이식재의 표면 특성 연구 동향과 유효성 분석

정용훈, 이계욱, 정태곤\*

오송첨단의료산업진흥재단 첨단의료기기개발지원센터

### Research trends and Efficacy Analysis of Surface Characteristics of Bone Grafts

Yong-Hoon Jeong, Gye-Wook Lee, Tae-Gon Jung\*

Department of Medical Device Development Center, Osong Medical Innovation Foundation (KBIOHealth),  
Cheongju 28160, South Korea

(Received 04 July, 2024 ; revised 22 July, 2024 ; accepted 23 July, 2024)

#### Abstract

As the population ages, the importance of effective bone disease treatments is increasing, highlighting the role of bone grafts. Bone grafts are categorized into natural (autografts, allografts, xenografts) and synthetic (ceramics, polymers). Natural grafts have excellent regenerative abilities but pose biological risks, while synthetic grafts are biocompatible but less effective in regeneration. Various studies aim to enhance the safety and efficacy of bone grafts, significantly altering their surface properties. This review examines these studies and the resulting surface changes, aiming to guide future research and clinical applications.

*Keywords : Bone graft; Surface characteristic; Surface effectiveness; Bone regeneration; Biomaterials.*

## 1. 서 론

골 관련 질환은 현재 정형외과 분야에서 가장 흔한 질병 중 하나이다. 전 세계적으로 고령화 추세에 접어들면서, 골 질환을 치료하기 위한 치료제의 필요성 또한 증대되고 있으며, 선천적 기형이나 외상으로 인한 골절, 감염 등의 골 관련 질병을 치료하기 위한 최적의 치료 방법 중 하나로 골이식재가 고려되고 있다. 골이식재는 원재료, 형상, 기능적 특성에 따라 여러 종류가 존재하며, 이상적인 골 이식과 회복을 위해서는 적응증과 특성을 고려한 알맞은 골이식재를 선택하는 것 또한 매우

중요한 요인이 된다.

골이식재의 골 재생 특성은 골형성(osteogenesis), 골유도(osteoinduction), 및 골전도(osteoconduction)의 3가지로 구분되며, 이식 초기부터 골 유합이 끝나는 과정 동안 주변 조직과 지속적인 영향을 주고받게 된다[1-2]. 골형성이란 이식재가 직접 신생골을 형성하는 것으로, 다시 말해 골형성능을 보유한 이식재는 자체적으로 살아있는 골 재생 세포를 포함하고 있어 이식 후 이식부에 부착되는 초기 과정부터 능동적인 골 재생 활동에 관여하는 것을 말한다[3]. 골유도는 이식재 주변에 미분화 간엽세포들을 골모세포나 연골모세포로 분화 유도하여 신생골을 형성하게 하고 골형성이 기대되지 않는 부위에서 골형성과 성장을 촉진하는 것이다[4]. 골전도는 이식부에 지

\*Corresponding Author : Tae-Gon Jung  
Osong Medical Innovation Foundation (KBIO Health)  
Tel: +82-43-200-9733 ; Fax: +82-43-200-9733  
E-mail: bygon@kbiohealth.kr

지체(scaffold)를 제공하고, 주위 골조직으로부터 골모세포가 이주한 후, 무기질 침착으로 인해 골이 형성되는 과정을 말하는 것으로 반드시 주변에 골조직이나 분화된 간엽세포가 있어야 한다[5]. 이상적인 이식재는 3가지 기전을 모두 포함하면서도 생물학적으로 안전한 이식재를 일컫는다[6].

골이식재는 1)환자 자신의 뼈에서 채취하는 자가골, 2)타인의 뼈에서 채취하는 동종골, 3)동물 등 이종의 생물에서 유래하는 이종골 등으로 분류되는 천연골 이식재(natural bone graft)와 4)물질의 합성을 통해 제조되는 합성골(synthetic bone graft)으로 분류될 수 있으며 각각의 특징과 한계점을 갖는다. 우선, 천연골은 생체에서 유래된 뼈를 가공하여 사용하기 때문에 인공적으로 모방하기 어려운 본연의 생물학적 특성에 기반한 우수한 골 재생 특성을 갖지만 그에 따라 유전학적, 면역학적 위험을 유발할 수 있다[7]. 반면, 합성골은 생체적합성의 합성 원재료를 기반으로 만들어져, 유전 물질의 전이나 박테리아 감염과 같은 위험성은 없으나 그 자체로는 생리활성이 제한적이고 화학적, 구조적 특성에 의존한 골전도성만을 갖기 때문에 분해 및 재형성 과정이 원활하지 못한 기능적 한계가 있다[8]. 이러한 이식재에 대한 한계점과 개선 필요성에 대한 인식이 증대되면서, 이를 극복하기 위해 새로운 가공 방식을 적용하거나 기존에 사용되지 않던 소재를 결합하는 등의 다양한 시도들이 이루어지고 있다. 골이식재의 한계점을 개선하기 위한 이러한 연구들에서 공통적으로 나타나는 가장 큰 변화는 표면 특성의 변화로, 표면은 주변 세포, 조직과 직접 접촉하여 상호작용을 일으키며 세포 부착, 증식, 분화 등과 같이 조직 재생에 있어 중대한 영향을 주기 때문에 관련 연구에서 반드시 분석되어야 한다[9].

본 연구에서는 골이식재의 특성을 개선하기 위한 여러 연구 사례들을 소개하고 해당 연구에 따라 발생하는 표면 변화의 분석 방안과 조직 재생에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

## 2. 본 론

### 2.1. 천연골 이식재(Natural bone graft)

#### 2.1.1. 자가골 이식재(Autogenous bone graft)

자가골 이식재는 환자 자신의 골 조직을 사용하기 때문에 면역반응이나 질병감염 등의 위험없이

사용이 가능하며 골형성, 골전도, 골유도 특성을 모두 제공할 수 있어 이상적인 이식재의 표준으로 알려져 있다[10]. 하지만 추가적인 외과적 수술이 필요하고 많은 양을 채취하기 어렵다는 점과 채취를 위한 수술 중 약 17.9%에서 합병증이 보고되면서, 자가골을 대체하기 위한 이식재 개발의 필요성이 점차 증대되고 있다[11].

환자 자신에게서 채취하면서도 공여부에 부담을 주지 않는 방안에 대한 연구로 자가치아골을 골이식재로 활용하는 방법이 있다. 자가치아골이식재는 2008년 임상에 적용되어 안전성과 유효성에 대한 검증이 이루어졌다[12]. 연구에서는 법랑질과 상아질 분말로 각각 처리한 자가치아골이식재, 동종골, 이종골 및 합성골의 표면 결정학적 특성을 X-선 회절을 이용하여 비교 분석하여 자가골의 대체재로서의 가능성을 평가하였다[13]. 실험 결과, 자가치아골이식재 상아질과 동종골이 자가골과 가장 유사한 X선 회절 패턴을 보였으며, 이들은 피크가 낮고 옆으로 퍼진 형태로 무기질의 함량이 상대적으로 적고 저결정성의 아파타이트 구조임이 확인되었다. 저결정성일 경우 골세포에 의한 생분해가 가능하고, 우수한 골전도 특성을 갖기 때문에 자가골을 대체하기에 적합한 자가골의 형태로 확인되었다[14]. Kim et al.의 연구에서는 자가치아골이식재를 표면 및 물리화학적 특성을 기준으로 기존 이식재와 비교하는 실험을 진행하였다[15]. 주사전자현미경(scanning electron microscopy, SEM)을 통한 미세조직 분석에서 자가치아골은 동종골에 비해 거친 표면을 형성하였으나, X선 회절(X-ray diffraction, XRD)을 통한 결정학적 특성 분석에서는 높은 결정학적 유사도를 나타내었으며 EDS를 이용한 용해도 시험에서 공통적으로 초기 높은 칼슘 이온 방출 거동을 보여 두 이식재 간 물리화학적 특성이 매우 유사함을 확인하였고 이를 통해 자가골의 대체재로서 높은 활용 가능성이 있음을 확인할 수 있었다.

#### 2.1.2. 동종골 이식재(Allografts)

일반적으로 살아있는 환자의 수술 과정에서 버려지는 뼈를 회수하거나, 기증된 시체 일부에서 뼈를 추출하는 방식으로 얻을 수 있는 동종골 이식재는 주로 피질골과 해면골을 복합화한 형태로 사용되어 높은 강도를 통한 역학적 안정성을 제공하는 동시에 우수한 골전도를 보이는 장점이 있으나, 낮은 용해도로 인해 골유합이 느리고 공여자

로부터 전이되는 바이러스 등의 감염성 질환의 위험이 있다[16-18]. 이러한 한계점으로 인하여 생물학적 위험성을 포함하는 생체 분자들을 제거할 수 있는 세척 처리 과정이 필요하며[19], 이러한 세척 과정은 일반적으로 기계적 세척, 생물학적 세척제, 항생제, 액체 살균제 등의 방식을 조합하여 이루어진다[20]. 그 중 가장 중요한 단계는 유체 가압을 통해 최대한의 뼈의 골수와 세포 잔여물을 제거하여 면역반응과 질병 전이를 억제하는 단계로 에틸렌옥사이드 가스, 감마선 멸균 등의 추가 과정을 마치면 비로소 인체 적용 가능한 이종골 상태가 된다[21]. 앞서 서술한 이러한 물리·화학적 처리 과정은 유기물들을 제거하는데 효과적이지만, 외부 하중을 지탱하는 무기질이 제거됨에 따라 기계적 특성이 감소하며 골 조직 재생의 기능적 저하가 발생할 수 있다. 세척에 따른 특성 변화 연구에 따르면, 감마선 조사를 이용한 세척 전/후 피질골의 굽힘강도가 약 32%까지 감소되었으며, 충격강도가 95% 이상 감소하여 충격에 매우 취약한 특성을 보였다[22].

연구에서는 이러한 문제를 해결하기 위해, 무기질로 구성된 구조적 특성을 보존할 수 있는 세척 방식에 대한 연구가 진행되고 있다. DePaula C.A.의 연구에서는 과산화수소를 도입한 세척 방식을 제안하였는데, 처리가 되지 않은 인체 피질골의 압축강도와 비교하여 통계적으로 유의미한 차이가 없는 것으로 나타나 기계적 특성 보존에 효과적인 세척 방식임이 확인되었다[23]. 또, 매우 낮은 분자량의 펩타이드로 골유도능을 제어할 수 있는 골 형성 단백질을 세척 후에도 보존할 수 있는 것으로 확인되었다[24].

다른 연구에서는, 초음파 세척 및 초임계 이산화탄소(scCO<sub>2</sub>)를 이용하여 이식재를 세척하고 유효성을 확인하였다[25]. -80°C에서 냉동보존 과정을 거친 골편을 대조군으로 사용하여 새로운 방식의 세척 공정을 거친 골이식재를 비교 분석한 결과 초임계 처리된 골이 우수한 기계적 특성을 보였으며, SEM 분석에서는 초임계 처리 골에서 더 많은 양의 표면 공동(cavity)이 형성됨을 확인하였다. 특히 고배율에서는 콜라겐으로 이루어진 더 많은 영역의 섬유질 구조가 관찰되었는데, 초임계 세척 방식은 콜라겐 구조와 골표면의 미세 기공의 분포 패턴을 형성하여 세포 접착 및 증식, 골전도에 유리한 이식재의 형상을 보존하는 것으로 확인되었다[26].

### 2.1.3. 이종골 이식재(Xenograft)

이종골 이식재는 다른 종에서 추출된 골 조직을 열처리, 수열처리, 화학적 처리 등의 과정을 거친 이식재를 말한다[27]. 이종골의 원재료 사용되는 대표적인 종들은 소, 돼지, 낙타, 말 등이 있으며, 이들은 인체 유래골과 매우 유사한 구조 및 특성을 갖고 있어 임상에서 많이 사용되고 있는 골이식재 중 하나이다[28-29]. 하지만 이식 이후 장기간에 걸친 기간 동안 전이될 수 있는 유전 물질 등의 생물학적 위험성에 대한 임상적 검증이 미흡하다는 단점이 있다. 따라서, 이종골 이식재 제조 과정에서 핵심은 본연의 특성에 영향을 주지 않으면서도 효과적으로 유기물들을 제거하여 이식 안정성을 확보하는 것이다[30-31].

유기물 제거 방식인 산 또는 염기성 용액을 이용한 탈회골(demineralized bone, DMB)의 경우 공정 중 상당 부분 무기물이 제거되어 매우 낮은 강도를 갖기 때문에 일부 작은 결손부를 메우기 위한 충전재로 사용되거나 다른 이식재와 함께 사용되어야 하는 단점이 있다[32]. 반면 탈세포화골(decellularized bone, DCB) 처리 방식은 세포외기질을 기존 세포 및 유전 물질로부터 분리시킨 뒤 생물학적 위험성을 갖는 요소만을 제거하여 지지체로서의 특성을 보존할 수 있다는데 장점이 있다[33-34]. 연구에서는 소의 대퇴골에서 추출한 뼈를 DMB와 DCB 두 가지 방법으로 각각 처리하여 특성을 비교하였는데, DMB와 달리 DCB 골이식재는 대조군 대비 처리 전의 기계적 강도 및 구조적 특성을 그대로 유지하였으며, 지질과 핵산 등의 유전물질이 효과적으로 제거됨이 확인되었다. SEM을 이용한 미세 표면 형상분석에서는 DMB, DCB 모두 이물질이 제거됨을 확인하였으나, DCB만이 천연골 본래의 3차원 상호연결된 기공구조를 보존하였다. 특히 고배율에서 DMB의 경우 무기질이 없는 콜라겐의 섬유질 구조가 관찰된 반면, DCB에서는 무기질, 콜라겐 구조가 함께 발견되어 차이를 나타냈다. 에너지 분산 X-선 분광법(energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDS)을 통한 표면 이온 분석 결과, DCB는 천연골에서 존재하는 칼슘, 인, 나트륨 이온을 상당 부분 보존하였으나, DMB에서는 이와 같은 이온이 거의 검출되지 않았다. 푸리에 변환 적외선(Fourier transform infrared, FTIR) 분석에서는, 두 시료 모두 천연골에서 존재하는 콜레스테롤의 피크가 발견되지 않은 것으로 보아, 지질이 제거됨을 확

인할 수 있었고 공통적으로 인산염 피크가 감소함을 확인하였다.

또한, 이종골 이식재의 체내 이식 후 생분해 특성을 일관적으로 구현하기 위해서는 그 과정에서 기공과 분포 또한 균일해야 하는데[35-37], 소결 공정제어를 통해 균질성을 향상시킬 수 있다. 소결 공정은 고온의 열처리를 통해 유기물을 손쉽게 제거할 수 있으며 소결 온도와 유지 시간으로 이종골 이식재의 물리화학적 특성을 제어할 수 있다. 특히 결정화도의 제어는 흡수 속도와 밀접한 연관이 있어 이에 따라 체내에서 흡수되는 속도 또한 원하는 기간으로 제어할 수 있다[38]. 단, 원재료에 따라 소결 거동이 다르기 때문에 이종골의 공급원에 따라 개별적인 소결 특성에 대한 연구가 선행되어야 한다.

연구에서는 대표적 이종골 이식재인 소뼈와 돼지뼈의 소결 조건에 따른 물리화학적 특성과 흡수성에 대한 연구를 수행하였다[39].

본 연구의 특성 분석은 XRD, FTIR, SED-EDS를 통해 각각 결정학적 특성, 화학구조 분석(인체골( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )과의 유사도), Ca/P 비율(1.67) 분석을 진행하였다. 소뼈의 경우, 소결 온도가 증가함에 따라 결정화도가 증가하였고, 특히, 650°C 이상에서는 유기물의 제거로 인해 수산화인회석(hydroxyapatite, HA) 형성이 두드러지게 나타났으며, 낮은 온도에서는 비교적 넓고 낮은 피크가 관찰되었으나, 고온 소결 시 피크가 뚜렷해지고 결정 크기가 커졌다. 화학적 구조의 경우 500°C 이상에서는  $\text{PO}_4^{3-}$  및  $\text{OH}^-$  이온의 존재가 확인되었으며, 300°C 이상에서는 유기물의 제거가 관찰되었다. Ca/P 비율 분석에서는 1.57에서 1.66까지 증가하는 경향을 보였다. 한편 돼지뼈의 경우, 600°C 이상에서 HA가 형성되었고, 결정화도가 증가함이 확인되었다. 특히, 고온 소결 시 그래프의 잔여 잡음이 감소하였고, 이는 비정질의 유기물이 제거됨을 반영하였다. 화학적 구조에서는 소뼈와 유사하게 500°C 이상에서 주요 이온들의 존재가 확인되었다. 하지만 Ca/P 비율은 1.71에서 소결 후 1.68로 약간 감소하였는데 이는 소뼈는 고온 소결에서 높은 결정성의 HA를 형성하는 반면 돼지뼈는 일부가 삼인산칼슘(tricalciumphosphate,  $\beta$ -TCP)을 형성하였기 때문으로 소뼈보다 체내에서 빠르게 흡수되는 경향을 보였다.

## 2.2. 합성골 이식재(Synthetic bone graft)

합성골 이식재는 인체골과 유사한 화학적 조성을 갖기 때문에 이식 후 우수한 생체적합성을 보이며, 항원 반응을 유발할 수 있는 세포, 단백질 등의 생물학적 분자를 포함하지 않기 때문에 상대적으로 높은 안전성의 강점이 있다[7]. 반면 1)기계적 강도가 취약하고, 2)생리활성 물질이 없어 골유도, 골형성능이 없으며 3)콜라겐 등의 섬유질 구조가 없어 적절한 탄성, 비표면적 및 기공 특성을 구현하기 어려운 단점이 있다[8].

합성골 이식재의 원재료로는 HA와  $\beta$ -TCP를 포함한 인산칼슘계 세라믹, 황산 칼슘(calcium sulfate, CS), 생체유리 등이 있으며 가장 많이 활용되고 있는 인산칼슘계 세라믹의 경우, HA는 비교적 강도는 우수하나 비활성으로 생분해가 느린 반면에,  $\beta$ -TCP는 이와 반대로 골형성 주기보다 빠르게 생분해되어 효과적인 공간유지에 실패할 수 있다는 단점이 있다. 따라서 이러한 한계들을 극복하기 위해, 2상 세라믹(biphasic ceramic)의 형태로 사용되거나[40], 기존 인산칼슘계 대비 빠르게 아파타이트층을 침전시킬 수 있는 옥타칼슘포스페이트(octacalcium phosphate, OCP)[45], 인체골과 유사한 구조적 모방을 위한 콜라겐 혼합 이식재[54] 등 다양한 시도들이 이루어지고 있다.

### 2.2.1. 2상 세라믹 골이식재(Biphasic ceramic bone graft)

대표적 합성골 원료인 HA, TCP, 생체유리 등은 각각 생체소재로서의 한계가 명확하여 현재는 2상 이상의 세라믹이 혼합되어 상호보완재로서 작용할 수 있는 형태의 복합소재 개발이 진행되고 있다. 대표적인 2상 세라믹 혼합 이식재는 2상 인산칼슘 세라믹(biphasic calcium phosphate, BCP)으로 HA의 높은 골전도성과 생체적합성을 기반으로 빠른 흡수와 골재생 관련 이온의 공급원인  $\beta$ -TCP를 혼합한 형태가 있다[40].

P.Habibovic et al.의 연구에서는 2상 인산칼슘의 구성비와 소결온도에 따른 물리화학적 특성과 양 모델에서 진행된 이식 결과를 평가하였다[40]. 상대적으로 저온에서 소결된 BCP 시료에서는 높은 미세기공과 비표면적이 관찰되었고 이식 후 소결에서도 이러한 특성으로 인하여 이소성 이식에서는 11마리 중 9마리에서 골유도성이 관찰되었

으며, 정형외과적 이식에서 가로돌기 전반에 걸쳐 골형성이 발견되었고 빠르고 향상된 골전도 소견을 보였다. 1300°C 이상의 고온으로 소결되어 치밀한 구조를 형성한 BCP 시료에서는 저온 소결시료보다 약 5배 높은 압축강도 특성을 보였으나 비표면적이 7배 이상 감소하였고 상대적으로 매끈한 형상의 표면이 형성되었다. 그 결과, 이식에서 골유도성이 나타나지 않았고, 가로돌기 아래에서만 제한적으로 형성된 골이 발견되었다. 다른 연구에서는 뼈와 유사한 구조를 가지지만 분해속도가 매우 느린 HA에 분해속도가 상대적으로 가장 빠른 황산칼슘 혼합하여 이중성분 골이식재를 개발하고자 하였다[41]. 물리적으로 혼합된 HA/CS를 1100°C 소결하여 제조된 이식재는 10주에 걸친 분해실험 결과, 초기 7주 동안 1차로, CS 상의 분해가 발생하였고, 10주 기간 내내 HA 상은 매우 느린 분해 양상을 보였다. CS가 초기 지배적으로 분해되면서 pH는 산성으로 변하였으며 많은  $Ca^{2+}$  이온을 방출하다가 점차 안정화되었다. 표면특성으로는 CS의 분해과정에서 나타나는 침상형의 침전물이 발견되었고 화학적 결합이 아닌 물리적 혼합된 상태로 독립적인 분해과정을 겪는 것으로 확인되었다[41]. 2상 세라믹 골이식재는 단일상의 이식재가 갖고 있는 한계점을 보완하여 향상된 골전도 특성과 골재생에 적합한 생분해 주기를 구현하였다.

### 2.2.2. 인산칼슘 외의 합성골 이식재(Synthetic bone grafts other than calcium phosphate)

현재 시판 중인 성골 이식재의 경우 대부분 HA와  $\beta$ -TCP로 구성되어 있으나, 이 외의 화학적 조성을 갖는 세라믹을 이용한 골이식재 개발을 위한 연구가 진행되고 있다. 그 중 옥타칼슘 포스페이트(octacalcium phosphate, OCP)는 골 결손 부위에서 생분해되며 pH 중성을 유지하는 특성을 갖는다[42-43]. OCP는 HA의 전구물질로서, 생리적 환경에서 OCP 내  $H_2O$  층이 제거되면서 HA 결정구조를 형성하게 된다[44]. OCP는 많은 장점에 불구하고 대량생산이 어려웠으나, 최근 저온 양산 공정을 통해 제품화가 완료되어 낮은 결정성과 높은 비표면적을 갖는 OCP 골이식재 상용화되고 있다[45].

최근 연구에서는 시판 중인 OCP 골이식재와 소 뼈 유래 이중골, BCP 3 종류의 이식재를 물리

화학적 특성과 토끼 이식모델에서 비교 평가하였다[45]. 각 이식재의 표면특성 분석을 위해 SEM과 XRD을 통해 재료의 특성을 분석하였으며, 열두 마리의 뉴질랜드 흰 토끼를 사용하여 각 재료를 경골 결손 부위에 이식하고 4주 및 12주 후 조직학적 평가를 수행하였다. 그 결과, OCP는 BHA 및 BCP에 비해 더 높은 재흡수 및 새로운 뼈 형성을 보였으며( $p < 0.05$ ), 이는 OCP가 골모세포를 활성화하고 빠른 상전이를 통해 생체 아파타이트 결정으로 전환되는 특성에 기인함을 확인하였다. 다른 연구에서는 생체유리를 이용한 골이식재 개발에 대한 연구를 진행하였다[46]. 생체유리는 실리카 기반의 소재로, *in vivo* 조건에서 HA를 형성하며, 생리활성을 갖는다[47]. 생체유리의 가장 큰 특징은 이온 교환을 원활하게 할 수 있다는 점으로 이식 주변부에 골 재생을 유도할 수 있는 이온들을 내놓으면서 표면에 HA가 침전될 수 있도록 돕는다[48]. 또, 구조적으로 뼈의 무기질 구조와 유사하며 빠르게 흡수되기 때문에 이 과정에서 형성된 빈 공간들은 혈관이 침투할 수 있는 채널이 된다[49]. Rauany Cristina Lopes et al.은 졸-겔법으로 제조한 생체유리 골이식재를 쥐에서 추출한 골편과 함께 혼합하여 복합골이식재를 제조하고 골이식재로서의 특성을 분석하였다. FTIR 분석 결과, HA의 형성이 확인되었으며, SEM, EDS 분석을 통해 30일 동안 SBF에 침지된 샘플에서 HA 결정의 성장하였고, 화학적 조성이 시간이 지남에 따라 자연 뼈와 유사한 형태로 형성되는 것이 확인되었다. 질량분석에서 초기 2일 동안 생체유리의 염이 용해되어 질량이 감소하였으나, 이후 HA 결정이 형성되면서 약 30 wt.%의 질량 증가가 관찰되었다.

인산칼슘 이외의 합성골 이식재는 기존 인산칼슘계 합성골 대비 향상된 생물학적 활성을 보였고 안정적으로 골 형성을 촉진하였다.

### 2.2.3 콜라겐을 포함하는 골이식재 (Bone grafts containing collagen)

성인 인간의 뼈는 약 75%의 인산칼슘계 무기물과 약 22%의 콜라겐을 비롯한 소량의 단백질과 펩타이드로 구성되어 있다[50]. 콜라겐은 골전도에 적합한 구조적 특성이 있으며, 생체적합성이 우수하나 체내에서 분해가 빠르고, 수화되었을 때 기계적 특성이 낮아 단독으로는 사용이 어렵다[51]. 다른 단백질이나 중합체, 무기물과 물리적

또는 화학적으로 결합된 형태의 이식재에 대한 연구가 진행 중이다[52-53].

Burcu Sarikaya et al.의 연구에서는 탈수열 공정을 통해 콜라겐과  $\beta$ -TCP를 기반으로 한 생분해성 지지체를 개발하였다. 이 연구에서는 두 소재를 혼합한 후 동결 건조 및 탈수열 처리하여 스캐폴드를 제작했다. 스캐폴드는 전체 다공성과 개방 다공성이 높은 비율을 차지하며, 기공 크기는 적절한 수준으로 나타났다. 탈수열 처리 시간에 따라 기계적 강도가 변화하였으며, 특정 시간 처리 시 최적의 강도를 나타냈다. FTIR 분석을 통해 감마 방사선 멸균 후 콜라겐의 교차 결합 밀도가 증가한 것이 확인되었다. DSC 분석에서는 콜라겐의 변성 온도가 멸균 여부에 따라 차이를 보였으며, 멸균 샘플이 비멸균 샘플보다 높은 변성 온도를 나타냈다. MG63 세포주를 사용한 세포 배양 실험에서는 초기 세포 농도가 높았으며, 스캐폴드가 완전히 분해된 후에도 세포 생존율이 유지되었다.

다른 연구에서는 두 가지 상용 이중골 이식재, InterOss® Collagen과 OCS-B Collagen®의 물리화학적 특성과 생체 내 반응을 비교하였다[54]. InterOss Collagen은 소 뼈 입자와 돼지 피부 유래 콜라겐을 9:1 비율로 혼합한 제품으로, 물리화학적 분석 결과, InterOss Collagen은 OCS-B Collagen보다 더 높은 비표면적( $77.0 \pm 0.2 \text{ m}^2/\text{g}$  대  $49.7 \pm 1.2 \text{ m}^2/\text{g}$ )과 총 기공 면적( $73.4 \pm 1.3 \text{ m}^2/\text{g}$  대  $60.2 \pm 1.7 \text{ m}^2/\text{g}$ )의 표면 특성 차이를 나타냈다. 이를 기반으로 한 토끼 이식모델에서 진행된 생체 내 연구에서도 InterOss Collagen의 잔여 물질 점수는 1.4로 OCS-B Collagen의 2.3보다 낮아, InterOss Collagen이 더 빠르게 흡수되는 것으로 확인되었다. Hyun Min Jo et al.의 연구에서는 이중골이식재 표면에 콜라겐을 코팅한 후 물리화학적 특성을 분석하였다. SEM, BET, FTIR, wettability, 3D tomography 분석을 통해 각각으로 표면의 특성을 규명하였는데 콜라겐이 코팅된 이식재의 표면의 거칠기와 젖음성이 향상되었으나 본래 콜라겐 구조를 포함하는 이중골이식재에서 유의미한 표면 형상변화는 관찰되지 않음을 확인하였다. 이중골 대비 합성골에 콜라겐을 코팅하였을 때, 더 많은 표면 특성 특성의 개선이 일어나는 것을 확인할 수 있었다.

### 2.3. 표면개질 골이식재 (Surface modified bone grafts)

#### 2.3.1. 성장인자가 코팅된 골이식재 (Bone grafts coated with growth factors)

뼈 재생에는 BMP-2, BMP-4, FGF, VEGF, PDGF, IGF-1 등의 여러 성장 인자가 관여한다[55]. 그 중 골형성단백질 BMP-2, 4, 6, 7, 9는 골유도와 관련된 특성이 있으며[56], 특히 BMP-2는 MSC의 분화를 촉진하고, BMP-7은 혈관 신생을 촉진하는 기능이 있는 것으로 알려져 있다[57-58]. 현재 가장 많이 사용되고 있는 BMP-2는 흡수성 콜라겐 스펀지 및 골이식재 표면에 코팅된 형태로 상용화되었다(Infuse, Medtronic社). BMP-7을 적용한 의료기기 OP-1은 2001년 처음 FDA의 승인을 받아 자가 이식이 불가능한 난치성 장골 불유합에 사용되었다[59]. 하지만, 현재는 실효성이 크게 입증받지 못하여 전 세계적으로 사용되지 않고 있는 추세이다[60].

Yufeng Zhang et al.은 연구에서 각각 BCP와 콜라겐으로 제조된 지지체에 BMP-2를 코팅하여 신생골 형성에 대한 유효성을 평가하였다[61]. BCP, 콜라겐 두 지지체 모두에서 표면에 BMP가 코팅된 이식재에서 더 많은 양의 신생골 형성이 되었으며, 코팅되는 BMP의 농도가 증가할수록 생성되는 골의 양 또한 증가하였다. 그룹간 비교에서는 BCP에 BMP가 코팅되었을 때, 콜라겐에서보다 3배 이상 증가하였다. ELISA 단백질 정량 분석을 통해, 방출되는 BMP의 양을 비교하였을 때, BCP에서는 이식 후 1일차부터 급격히 발생되었고, 콜라겐에서는 14일 동안 점진적으로 방출되었다. 실험 결과, BMP는 높은 농도로 표면에 코팅되어 서서히 방출될 수 있는 이식재와 함께 사용될 경우 골 재생에 효과적임을 확인하였다.

#### 2.3.2. 염증제어 물질이 코팅된 골이식재 (Bone grafts coated with inflammation control material)

뼈는 강한 자가 치유 능력을 가지고 있으나, 골 질환 회복과정에서 5~10%는 지연 유합, 부정유합, 불유합 등의 치료의 실패로 이어진다[62]. 이러한 실패의 주요인은 이식 주변부의 염증반응이며, 실패를 방지하기 위해 염증 제어가 필요하다. 골 조직의 재생은 염증, 재생, 재건 3 단계를 거치게 되는데 염증 과정은 조직 재생에 필수적인 단계이긴 하나 염증 수준이 높아지거나 급성에서 만성으로 진행될 경우, 골 질환으로 귀결되게 된다

[63-65].

염증이나 감염과 같은 생물학적 위험성을 제어하기 위해 골이식재 표면에 다양한 생체활성 물질들을 결합시키고자 하는 연구들이 진행되고 있다. 대표적으로 연구되고 있는 물질로는 글루코사미노 글리칸(glycosaminoglycans, GAGs), 히알루론산(hyaluronic acid, HA), 콘드로이틴 설페이트, 헤파린 설페이트 등의 물질이 있다[66]. 연구에 따르면, GAGs가 다중층으로 표면에 코팅된 지지체에서 이식 후의 염증 반응이 억제됨이 확인되었고[67], 다른 연구에서는 다중층으로 헤파린을 표면코팅하였을 때, IL1- $\beta$ 의 분비량이 줄어드는 것을 통해 헤파린의 염증억제 작용을 확인할 수 있었다[68].

다른 연구에서는 항염증 물질을 도입하는 방식 이외에 효과적으로 염증을 억제하기 위한 또 하나의 방식으로는, 항박테리아성 물질을 사용하는 연구 또한 진행되었다. 대표적으로 생체유리, 그래핀, 나노 금속 이온 등을 활용한 코팅 방식이 있으며[69], 그래핀 코팅은 바이오 세라믹과 결합하여 구조나 생체적합성을 저해하지 않고 기계적 특성을 강화시킬 수 있고[70], 높은 탄성계수로 인해 자발적인 조골세포 분화를 유도할 수 있다[71-72]. Patricia Mazón et al.의 연구에서는[134], 디스크 타입의 다공성 지지체로 제작된 SiCaP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 펠렛을 그래핀 옥사이드(Graphene Oxide, GO) 수용액에 침지하여 코팅층을 형성하고 특성을 분석하였다. SEM을 통한 표면 미세 구조 분석결과 그래핀 코팅층이 거칠고 물결 모양 형태로 형성됨이 확인되었고, in vitro 평가에서 세포 부착, 증식 및 분화 특성이 향상됨이 확인되었다.

### 2.3.3. 플라즈마 표면처리 골이식재 (Plasma surface treatment bone grafts)

플라즈마를 이용한 표면 개질 방식은 골이식재 뿐 아니라, 임플란트 등 다양한 생체소재의 특성을 개선하기 위한 방법으로 사용되고 있다. 신생골 재생의 핵심 요소인 골전도성을 개선하기 위해서는 표면의 젖음성 및 생리활성을 증대시키는 방법이 효과적으로 작용할 수 있으며[74-75], 플라즈마 처리를 통해 친수성이 향상된 골이식재의 경우 성장인자 및 골재생 단백질이 표면에 흡착되는 경향이 향상되어 골 재생을 개선할 수 있다[76].

Luigi Canullo et al.의 연구에서는 합성골과 이

종골 표면에 아르곤 플라즈마와 자외선을 조사하여 표면특성을 개질하는 연구를 진행하였다[77]. 합성골로는 Mg-HA, BCP를 사용하였고, 이중골로는 해면골, 피질골을 각각 사용하여 제작된 디스크 형태의 지지체를 각각 자외선과 아르곤 플라즈마 처리하여 표면에서 발생한 변화를 관찰하였다. SEM을 이용한 표면 형상분석에서, BCP에서 나노입자들의 크기가 UV와 미처리 시료보다 약 6배 가량 증가하였는데 일부 용융되어 응집된 것으로 판단된다. 또 피질골에서는 거칠기 및 기공이 증가하였다. 이러한 표면의 변화들은 염증반응은 유발하지 않으면서 골이식재의 골아세포의 부착을 유의미하게 증가시켰다. 다른 연구에서는 대표적인 소수성 합성고분자인 PLGA를 이용하여 콜라겐, PLGA-콜라겐 혼합물을 각각 용매 캐스팅법, 3D-bioplotting을 이용해 필름과 지지체 형태의 시료를 준비하고, 일부 샘플은 0.1-0.2 mbar, 30W의 조건에서 4분간 아르곤 플라즈마 처리를 수행하였다[78]. 실험 결과, 플라즈마 처리된 시료의 표면 젖음성 측정에서 접촉각이 크게 감소하여 표면의 소수성이 감소한 것을 확인할 수 있었다. 또, BCA 분석에서 플라즈마 처리 시료 표면의 콜라겐 방출량이 처리되지 않은 시료에 비해 적은 양이 방출되었음을 확인하였다[78].

### 2.3.4. 이온 치환 골이식재 (Ion-substituted bone graft)

합성골 이식재는 체내 환경에서 세포에 의한 대사 작용이나 혈액에 의한 용해 거동으로 인해 점진적으로 분해되거나 흡수된다[79]. 이 과정에서 이식재를 이루고 있는 인산칼슘의 화학적 조성에 따라 칼슘(Ca<sup>2+</sup>), 인산염(PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) 등의 이온들을 방출하게 되는데, 이는 국소적인 부위의 체액 내 이온 과포화를 유발하고 표면에 생물학적 아파타이트 층을 침전함으로써, 골형성 세포의 부착이 용이하도록 돕는다[80]. 합성골 이식재와는 달리 생체에서 유래한 천연골 이식재에는 칼슘이나 인산염 이외에도 골형성 및 골재생을 촉진할 수 있는 다양한 생리활성 이온들을 일부 포함하고 있는데 [81-82], 합성골 이식재에 이러한 생리활성 이온들을 인위적으로 도입하여 생리활성을 부여하기 위한 연구들이 진행되고 있다. 대표적인 생리활성 이온인 스트론튬(Sr<sup>2+</sup>)은 낮은 농도로 뼈 조직에 존재하는 것으로 알려져 있으며, 합성된 HA의 표면에 미량 치환되었을 때 부작용 없이 골 결손



부위의 골 재생을 촉진하는 것이 확인되었다[83-84]. 마그네슘( $Mg^{2+}$ )은 인간 뼈에 저장되는 주요 이온 중 하나로, 골 대사에 긍정적인 영향을 미친다. Mg 치환된 HA는 세포 부착, 증식, 분화를 촉진하며, 항균 특성도 갖고 있다[85-86]. 아연( $Zn^{2+}$ )은 뼈 대사에 중요한 역할을 하는 미량 원소로, 골 재형성 과정에서 ALP 발현에 중요한 역할을 한다. Zn 치환된 HA는 세포 분화와 항균 특성을 갖추고 있어 금속 임플란트 코팅에 사용될 수 있다[88]. 나트륨( $Na^+$ )과 같이 칼슘( $Ca^+$ )보다 작은 원자반경을 같은 이온들을 아파타이트 결정 내에 치환시킬 경우 이온간 결합력이 약해져 체내 분해속도를 빠르게 제어할 수 있다[89,90]. 은( $Ag^+$ )은 항균 특성으로 인해, 치환되었을 때 이식 주변의 염증이나 박테리아 감염 예방에 효과가 있으며 체내 안전성을 높이고 임플란트 수명을 연장시킬 수 있다[91,92].  $CO_3^{2-}$ 은 생체에서 유래한 천연골에 상당량의 포함되어 있으며 합성골과 명확히 구분되는 특징 중 하나로, 이는 HA 구조의  $PO_4^{3-}$  또는  $OH^+$ 를 부분적으로 대체하며,  $CO_3^{2-}$  치환된 HA는 세포 증식과 분화를 촉진하고, 높은 용해성을 가져 골 재생에 긍정적인 영향을 미친다[98]. 하지만, 이러한 이온들이 안정적인 치환이 아닌 결정격자에 들어가지 않은 상태로 존재하게 되면, 빠른 이온 방출이 발생하여 주변 조직에 독성 영향을 미칠 수 있는 위험이 있다[99].

## 2.4. 골이식재의 표면 특성과 분석법

### 2.4.1. 표면의 특성에 따른 조직 재생

생체소재의 표면 특성은 조직재생의 측면에서 성능에 큰 영향을 미친다. 이식재의 표면 특성은 세포 부착, 증식, 분화 등의 세포 거동과 밀접한 연관이 있으며, 특히 표면의 화학적 구조, 결정학적 구조, 화학작용기 및 표면 거칠기 등의 특성에 의해 영향을 받는다[100].

골이식재의 물리적 표면 특성 중 표면 거칠기(surface roughness)는 골 조직이 재생되기 위한 세포의 접착, 증식, 분화에 영향을 준다. 조골세포 및 골 재생 관련 세포가 골이식재 표면에 성공적으로 접착되기 위해서는 우선 표면에 비트로넥틴, 피브로넥틴, 콜라겐과 같은 세포외기질(extracellular, ECM) 단백질이 강하게 흡착되어야 하며[101], 이렇게 흡착된 단백질은 조골세포 표면의 인테그린과 결합하여 하위 신호 전달

경로를 촉발시켜 세포의 증식과 분화를 유도한다[102]. 나노 단위로 형성된 표면 거칠기는 ECM 단백질 흡착을 증가시켜 조골세포의 부착을 촉진하는 것으로 밝혀져 있다[103-104]. 또한, 나노/마이크로 스케일의 표면은 매끄러운 표면에 비해 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC)의 골분화를 촉진하는 것으로 나타났다[105].

골이식재 표면의 화학적 특성은 젖음성, 표면전하, 화학적 작용기 등이 있으며 세포 모집, 증식 및 분화에 영향을 미친다. 표면의 화학적 특성 중 조직 재생에 가장 큰 영향을 미치는 특성 중 하나는 친수성과 소수성을 결정하는 젖음성(wettability) 특성이다. 연구에 따르면, 소수성을 띄는 생체재료 표면은 피브리노겐이나 IgG와 같은 혈청 단백질의 소수성의 내부를 노출시켜 면역 반응을 일으킬 수 있다[106]. 또, 소수성 표면에 노출된 대식세포는 염증 유발 마커를 발현하지만, 반면에 친수성 표면의 경우 항염증 마커의 발현이 증가하는 것으로 확인되었다[107]. 이러한 현상은 이식재에 의한 염증 반응을 빠르게 해소하고 중간엽 줄기 세포를 유도하는데 도움을 준다[108]. 이식재의 표면전하 특성에서는, 각각 양전하, 음전하로 대전된 표면의 특성이 다르게 발현되었다. 양전하로 대전된 표면에서는 피브로넥틴의 흡착 및 변성이 증가되었으며[109], 음전하를 띤 표면에서는 섬유아세포 부착과 성장을 촉진하는 동시에 박테리아 성장을 억제하여 염증 반응을 줄이고 조직 재생을 촉진하는 데 도움이 되는 것으로 나타났다[110]. 생체 재료에서 사용되는 대표적 작용기는 아미노( $-NH_2$ ), 하이드록실( $-OH$ ), 카르복실( $-COOH$ ) 및 메틸 그룹( $-CH_3$ ) 등이 있으며, 표면의 친수성/소수성을 부여하거나 정전기적 특성을 제어하기 위해 사용된다. 연구에 따르면, 이식재 표면에 존재하는 하이드록실기는 친수성을 부여하며 세포 부착 및 골형성 반응을 증가시켰다[111]. 반면에, 아미노 및 카르복실기는 염증반응을 크게 감소시켰으며, 특히 카르복실기는 섬유질 피막 형성을 억제하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다[112-113]. 이 밖에도 화학적 작용기는 이식재 표면에 고분자, 펩타이드, 화합물 등 생리활성 물질을 결합시키기 위한 매개체로 이용될 수 있다. 관련 연구에서는, 폴리젓산(PLA) 표면을 구연산과 폴리에틸렌이민으로 처리하여 형성된 작용기를 통해 표면에서 인산칼슘을 침전시키는 능력



을 향상시켰고, 이는 세포 증식과 골생성 반응을 촉진하는 데 사용되었다[114].

### 2.4.2. 표면 특성 분석

이상적인 골이식재를 선택하기 위해서는 앞서 언급된 표면 특성을 적절하게 분석하여야 한다. 특성 분석은 Table. 1에서처럼 분석하고자 하는 목적에 따라 적합한 분석 방식을 선택할 수 있다. SEM은 대부분의 표면 특성 연구에서 최우선적으로 고려되는 장비로 골이식재의 전체적인 형상부터 미세구조, 섬유질 층의 유무, 형성된 기공의 크기와 연결성을 확인할 수 있을 뿐 아니라, EDS와 결합되어 표면을 구성하고 있는 유기 물질의 원소 구성과 정량까지 분석이 가능하기 때문에 높은 범용성을 갖는 분석 장비 중 하나이다.[121,122] Ali Al Qabbani et al.의 연구에서는 SEM을 이용하여 골이식재의 형상과 기공 구조, 표면에 배양된 세포의 접착 상태를 직접 확인하는데 사용하기도 하였다[33]. 하지만, 이러한 범용성에도 불구하고 SEM은 평면적 데이터만을 제공하여 입체적인 형상의 이식 환경에 대한 전반적인 정보를 얻는 것에는 한계가 있다. 최근 연구에서는 조직학적 분석에 있어 신생골의 부피를 3차원으로 정량하고 정확한 형상학적 분석을 위해 Micro-CT를 이용한 분석을 사용하고 있다[115]. Micro-CT 분석은 3D의 고해상도 이미지를 통해 기존 골과 이식재를 명확히 구분할 수 있어 골 형성이 진행되는 과정에 대한 정보를 제공받을 수 있다[116]. BET(Brunauer-Emmett-Teller Analysis, BET) 분석은 시각적으로 확인하기 어려운 미세영역인 비표면적을 가스흡착 방식을 통해 측정하는 방식으로, Hyun Min Jo et al.의 연구에서는 콜라겐 코팅 유무에 따른 골이식재의 비표면적 변화를 측정하는데 활용하였다[117]. 표면의 전기적 특성이나 젖음성 등에 영향을 주는 화학적 구조는 FTIR, NMR(nuclear magnetic resonance, NMR), XRD 등으로 분석할 수 있으며 그 중 가장 많이 사용되는 것은 FTIR 분석이다. 뼈를 구성하는 물질(HA, 콜라겐 등)들이 FTIR의 파장(500-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) 내에서 모든 다른 적외선 파장을 흡수하기 때문에 구성 성분에 대한 명확한 특성이 가능하며 특정된 파장영역과 흡수율을 근거로 한 유기물/무기물의 상대적 정량 분석 및 결정화도, 탄산칼슘의 유무, 콜라겐의 가교도 등 골의 질적 특성과

관련된 분석에 활용이 가능하다[118]. 골이식재의 Ca/P 화학양론은 조직 재생의 성능 및 흡수 속도 등에 큰 영향을 주는 특성으로[119], Ca/P 비율 측정은 주로 SEM-EDS를 활용하여 분석하는 방식이 사용된다[120]. B H Harshitha Gowda et al.은 연구에서 SEM-EDS를 통해 환자의 연령별, 성별에 따라 탄소, 질소, 산소, 인산, 칼슘 등의 주성분 함량과 Ca/P의 비율을 통계학적으로 비교 분석하여 환자별 골의 특성을 특정하였다[126]. 다른 연구에서는 NMR 분석을 이용하여 감마 멸균 전/후의 생체유리 기반 골이식재 표면의 화학적 특성변화를 관찰하고 감마 멸균이 이식재에 미치는 영향에 대해 연구하였는데, 멸균 전/후로 화학적 이동값의 차이가 없어 멸균이 생체유리의 화학적 구조에 미치는 영향이 없음을 확인하였다[127]. HPLC(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)는 미생물학적 분석법 중 하나로, 용출을 통해 골이식재로부터 방출되는 생리활성 물질을 분석하는 방식이다[134]. Böttcher et al.의 연구에서는 뼈를 포함한 여러 조직에서 레보플록사신을 측정하기 위해 HPLC를 이용하여 미생물학적 분석을 진행하였다[135]. XPS(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)분석법은 X선 입사를 통해 표면의 원소, 화학적 결합 뿐 아니라 코팅층의 두께까지 파악이 가능한 분석방법으로, 연구에서는 유사체액 내의 골이식재를 XPS를 통해 분석하였는데 물질과 계면 사이의 반응을 시간별로 분석하여 이온과 유기물, 체액에서 일어나는 생물학적 반응들을 특정할 수 있었다[128,136].

## 3. 고 찰

현재, 골질환의 효과적인 치료를 위해서 골이식재의 중요성이 증대됨에 따라, 그 특성을 개선하기 위한 연구가 다각도로 진행되고 있다. Table. 2는 골이식재의 특성을 개선하기 위한 연구와 그에 따른 표면 변화에 대한 분석 방법을 정리한 표이다. 우선, 자가골에서는 발생할 수 있는 수술의 부담이나 제한된 사용량, 채취부에서 발생할 수 있는 합병증 등의 위험 요소를 극복하기 위해 자가치아골에 대해 연구하였으며, 자가치아골이 자가골과 유사한 결정학적 특성과 섬유질의 표면 구조를 갖고 있고, 초기 유사한 이온방출 거동을 나타내어 자가골을 대체하기에 적합한 특성을 갖는

Table 1. Surface characteristics and analysis methods of bone grafts.

Surface Characterization		Tools	Ref.
Physical properties	- Surface structure (Morphology)	- 2D: SEM - 3D: Micro-CT(in-Vivo)	[121-122]
	- Surface roughness	- SPM (Scanning Probe Microscopy-AFM, STM)	[123]
	- Surface Area	- BET	[117, 124]
Chemical properties	- Chemical structure analysis	- FT-IR - NMR - XRD	[127, 125]
	- Surface Quantative	Ca/P ratio, - XRD - EDS	[126]
	- Surface Qualitative analysis	- XPS - AES (Auger electron spectroscopy)	[128]
	- Phase diffraction	- XRD	[129]
	- Dissolution rate of coating layer	- ICP	[130]
	- Wettability	- Contact angle meter	[131]
	- Residue analysis	- XPS - AES - ICP	[132]
	- Surface degradability	(in vitro) Comparison of weight ratio - hydrolysis(37°C, PBS(or SBF)) - zymolysis(Add specific enzyme)	[133]
	- Bioactive substance release analysis	- Spectrophotometer - HPLC(High Performance Liquid Chromatography)	[134, 136]

것으로 확인되었다[14-15]. 생체 유래 소재는 공통적으로 이식 과정에서 발생할 수 있는 유전학적 요인, 면역학적 요인 등을 배제하면서도, 본래 가지고 있는 뛰어난 골유도성을 보존하는 것이 핵심 과제이다.

동종골 이식재는 같은 인간에서 유래하지만 타인의 시체나 수술과정에서 얻어진 뼈를 사용하기 때문에 잔존하는 생물학적 위험을 효과적으로 제거하기 위한 연구가 수행되었다. 초임계 이산화탄소를 이용한 세척 방식은 기계적 특성을 보존하면서도 유기물을 효과적으로 제거하였고, 표면 기공을 더 많이 형성함을 확인할 수 있었다[25-26]. 이종골 이식재에서는 기존에 무기질을 제거하는 방식이 아닌 세포만을 제거하여 기계적 특성을 보존하는 연구를 진행하였다. 미세구조분석에서 초기의 천연골 구조를 그대로 유지하였고, FTIR 분석에서 잔존하는 유기물이 없음이 확인되어 안전하면서도 표면 특성이 우수한 골이식재를 제조할 수 있었다. 합성골 이식재의 경우, 인산칼슘계 또는 이 외의 세라믹 2종을 혼합하는 2상 세라믹이나 합성소재가 갖지 못한 골유도능을 부여하기 위해 콜라겐을 혼합하는 방식 등을 통해 기존의 한계를 극복하는 연구가 진행되었다. 2상 인

산칼슘 세라믹의 경우 HA/TCP 간의 칼슘/인 비율, 상, 소결 온도 등의 차이로 인해 이식재 내의 구조적 결합 및 이식 후 생분해 속도의 차이를 가져온다. 우선 생분해되는 TCP가 유실되는 과정에서 구조 및 강도를 유지하는 HA의 비표면적 및 노출되는 체액의 양이 증가하여 강도 및 분해 특성이 단일 소재에서 중간 영역으로 제어되어 효과적인 골 재생을 유도할 수 있다[40-41]. 콜라겐은 인공골에 섬유조직을 부여하고 조직 재생에 관련된 생물학적 분자들이 흡착될 수 있는 구조적 환경을 제공한다. 앞서 서술한 바와 같이, 콜라겐을 포함한 골이식재는 높은 비표면적을 나타내며, 거칠기와 젖음성이 향상되었다. 이러한 특성은 초기 골 형성 단백질이 표면에 흡착되기 좋은 환경을 제공할 수 있어 부족한 합성골 이식재의 골유도 특성을 개선할 수 있다[54, 118]. 골이식재의 표면개질의 경우, 약물이나 성장인자 등의 물질을 코팅하거나 표면의 친수성을 향상시키고 생리활성이 가능한 이온들을 치환하는 방식 등을 포함한다. 성장인자는 줄기세포의 분화를 촉진하거나 혈관형성에 도움을 주는 인자들로 이종골 및 합성골 이식재에 결합된 골유도능을 부여하는 역할을 한다. Yufeng Zhang et al.은 연구에서는 BMP가

Table 2. Research on improving the properties of bone grafts and surface changes.

분류	연구 목적	표면 분석 방법	표면 특성	Ref
자가골 이식재	자가치아골의 자가골 대체 유효성 평가	XRD, SEM, EDS	- 자가골과 유사한 낮은 결정성 - 자가골과 유사한 거칠고 섬유조직 형태 - 높은 초기 칼슘 이온 방출	[14,15]
동종골 이식재	초임계 이산화탄소를 이용한 유기물 세척 유효성 평가	SEM	- 표면 공동(Cavity)수 증가 - 더 많은 콜라겐 섬유질 구조 유지	[25,26]
이종골 이식재	탈세포화 처리 이식재의 물리화학적 특성 평가	SEM, EDS	(탈회골 대비) - 더 넓고 연결된 기공 구조 - 콜라겐 섬유질 구조 유지 - 더 많은 양의 무기질 유지	[34]
	소결 공정에 따른 이종골 이식재 물리화학적 평가	XRD, FTIR	(소결 온도 증가에 따라) - 비정질상 감소, 결정화도 증가 - 아파타이트 구조 형성 확인 - 유기물 제거 확인 - 돼지 뼈의 경우 고온 소결시 $\beta$ -TCP 형성	[39]
합성골 이식재	저온소결 2상 인산칼슘 골이식재 특성 평가	XRD, FTIR, SEM, BET	(저온소결 BCP) - 거친 형상의 높은 비표면적 형성 - 덜 치밀한 미세 구조 형성 - 순수 HA 대비 비표면적 감소	[40,41]
	옥타칼슘포스페이트 골이식재 물리적 특성 평가	SEM, XRD, EDS	- HA의 전구체로서 표면 HA층 형성 - 생체 아파타이트 결정 형성 확인 - 빠른 재흡수 및 신생골 형성 확인	[45]
	생체유리 골이식재 특성 및 유효성 평가	SEM, EDS, FTIR, Degradability(weight loss)	- 이식 초기 생체유리염의 용해 및 아파타이트층 형성 확인 - 표면에 형성된 HA 확인 - HA 결정 형성으로 30% 질량 증가 확인	[47,48]
	콜라겐을 포함하는 골이식재의 특성 및 유효성 평가	FE-SEM, BET, FTIR, Micro-CT, Wettability	콜라겐 코팅 후, - 콜라겐 함량 증가에 따라 비표면적 및 표면 거칠기 증가 - 콜라겐 섬유질 구조 형성 - 표면 친수성 및 흡수량 향상	[110], [117]
표면처리 골이식재	성장인자가 코팅된 골이식재	Micro-CT	- 성장인자가 코팅된 양이 증가함에 따라 더 많은 의 신생골이 형성됨을 확인	[61]
	염증제어물질이 코팅된 골이식재	SEM	rGO 코팅 후, - 그래핀 코팅층이 거칠고 물결모양의 패턴으로 형성됨을 확인	[134]
	플라즈마 표면처리 골이식재	SEM, Wettability	BCP를 플라즈마 처리하였을 때, - 나노입자크기가 6배 증가함을 확인 - 피질골에서 거칠기와 기공율이 증가됨을 확인 - 젖음성에서 접촉각이 크게 감소하여 소수성이 감소함을 확인	[77]

코팅됨에 따라 많은 양의 신생골이 형성됨을 확인하였고, 더욱 많은 양이 코팅되고 서서히 용출될수록 신생골이 많이 형성됨을 확인할 수 있었다. 염증제어 인자가 코팅된 이식재의 경우 항산화나 항염증 물질을 골이식재의 표면에 도입하여 이물반응에 의한 염증을 감소시킬 수 있으며[70-73], 탄소 그래핀 보강재의 코팅으로 생물학적 특성을 유지하면서도 강도가 개선될 수 있다[134]. 플라즈마를 이용한 표면처리는 이식재 표면의 친수성을 향상시켜 골재생을 개선하며, 고분자의 가교를 유도하여 흡수성과 강도 특성을 개선하는데 사용될 수 있다

[78].

### 4. 결 론

본 연구에서는 골이식재의 안전성 및 성능 개선을 위한 여러 연구 사례에 대해 조사하고, 그에 따라 발생하는 표면 특성의 변화 및 분석 방법에 대해 소개하였다. 조직 재생에 있어, 표면 특성은 이식 초기부터 관여하며 골절 질환 치료에 중요한 영향을 미치기 때문에 성공적인 골이식을 기대하기 위해서는 표면에서 나타나는 다양한 특성 변화

들에 대한 이해가 동반되어야 한다. 또한 이러한 특성들은 개별적으로 나타나기보다는, 이식 주변 조직과 유기적인 상호작용을 하며 복합적으로 작용하기 때문에 하나의 분석에 의존하는 것보다 발생 가능한 변수들에 대해 예측하고 알맞은 분석법을 통해 분석되어야 한다. 본 연구를 통해 소개된 연구 사례와 표면 특성에 대한 분석법과 이해를 바탕으로 향후 골이식재를 이용한 골질환 개선을 위한 연구에 기여할 수 있을 것으로 기대한다.

## References

- [1] J.M. Lane, H.S. Sandhu, Current approaches to experimental bone grafting, *Orthopedic Clinics of North America*, 18 (1987) 213-225.
- [2] S.D. Boden, D.R. Sumner, Biologic factors affecting spinal fusion and bone regeneration, *Spine*, 20 (1995) 113S.
- [3] S.N. Khan, F. Cammisa, H.S. Sandhu, D.P. Diwan, K.L. Girardi, D.R. Lane, K.S. Khan, The biology of bone grafting, *JAAOS-Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 13 (2005) 77-86.
- [4] M.A. Velasco, C.A. Narváez-Tovar, D.A. Garzón-Alvarado, Design, materials, and mechanobiology of biodegradable scaffolds for bone tissue engineering, *Biomedical Research International*, (2015) 729076.
- [5] J.J. Klawitter, J.G. Bagwell, A.M. Weinstein, B.W. Sauer, J.R. Pruitt, An evaluation of bone growth into porous high density polyethylene, *Journal of Biomedical Materials Research*, (1976) 311-323.
- [6] A.H. Schmidt, Autologous bone graft: is it still the gold standard?, *Injury*, 52 (2021) S18-S22.
- [7] G.F. Rogers, A.K. Greene, Autogenous bone graft: basic science and clinical implications, *Journal of Craniofacial Surgery*, 23 (2012) 323-327.
- [8] H.Y. Park, S.I. Kim, Y.H. Kim, Biomaterials and futures for bone regeneration, *Journal of the Korean Orthopaedic Association*, 57 (2022) 447-456.
- [9] J. Jeong, J.H. Kim, J.H. Shim, J.H. Hwang, W.H. Heo, Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration, *Biomaterials Research*, 23 (2019) 4.
- [10] Y. Fillingham, J. Jacobs, Bone grafts and their substitutes, *The Bone & Joint Journal*, 98 (2016) 6-9.
- [11] E.M. Younger, M.W. Chapman, Morbidity at bone graft donor sites, *Journal of Orthopaedic Trauma*, 3 (1989) 192-195.
- [12] B. Mahardawi, S.H. Kim, C.H. Kim, H.S. Kim, Autogenous tooth bone graft material prepared chairside and its clinical applications: a systematic review, *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 52 (2023) 132-141.
- [13] G.W. Kim, S.K. Lee, J.Y. Kim, J.Y. Seo, S.I. Park, Analysis of crystalline structure of autogenous tooth bone graft material: X-ray diffraction analysis, *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 37 (2011) 225-228.
- [14] S.H. Lee, Low crystalline hydroxyl carbonate apatite, *The Journal of the Korean Dental Association*, 44 (2006) 524-533.
- [15] Y.K. Kim, J.Y. Lee, Y.S. Kim, J.W. Yun, Analysis of the inorganic component of autogenous tooth bone graft material, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11 (2011) 7442-7445.
- [16] Centers for Disease Control (CDC), Transmission of HIV through bone transplantation: case report and public health recommendations, *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 37 (1988) 597-599.

- [17] R. Murugan, K.P. Rao, T.S. Sampath Kumar, Heat-deproteinized xenogeneic bone from slaughterhouse waste: physico-chemical properties, *Bulletin of Materials Science*, 26 (2003) 523-528.
- [18] A. Figueiredo, M.S. Brito, J.A. Carvalho, R.L. Resende, F.M. Passos, A.C. Borges, Comparison of a xenogeneic and an alloplastic material used in dental implants in terms of physico-chemical characteristics and in vivo inflammatory response, *Materials Science and Engineering: C*, 33 (2013) 3506-3518.
- [19] C. Delloye, M. Cornu, D. Druez, O. Barbier, Bone allografts: what they can offer and what they cannot, *The Journal of Bone & Joint Surgery British Volume*, 89 (2007) 574-580.
- [20] J.F. Trotter, Transmission of hepatitis C by implantation of a processed bone graft: a case report, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 85 (2003) 2215-2217.
- [21] A. Pruss, R. Ottinger, M. Keler, J. Maier, R. Hepner, Effect of gamma irradiation on human cortical bone transplants contaminated with enveloped and non-enveloped viruses, *Biologicals*, 30 (2002) 125-133.
- [22] T. Boyce, J. Edwards, N. Scarborough, Allograft bone: the influence of processing on safety and performance, *Orthopedic Clinics*, 30 (1999) 571-581.
- [23] C.A. DePaula, R.J. Phipps, A.W. Goldenberg, R.G. Tamer, Effects of hydrogen peroxide cleaning procedures on bone graft osteoinductivity and mechanical properties, *Cell and Tissue Banking*, 6 (2005) 287-298.
- [24] M.W. Wolfe, S.L. Salkeld, S.D. Cook, Bone morphogenetic proteins in the treatment of non-unions and bone defects: historical perspective and current knowledge, *The University of Pennsylvania Orthopaedic Journal*, 12 (1999) 1-6.
- [25] G. Villatte, P. Bassel, B. Nguyen, Evaluation of the biomechanical and structural properties of bone allografts treated with a new cleaning process, *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 14 (2022) 608-616.
- [26] A. Rasch, K. Wolf, C. Krause, U. Nolte, F. Langer, Evaluation of bone allograft processing methods: impact on decellularization efficacy, biocompatibility and mesenchymal stem cell functionality, *PLoS One*, 14 (2019) e0218404.
- [27] D.K. Kim, H.J. Jeong, J.Y. Park, J.H. Lee, Y.J. Kim, Comparison of a synthetic bone substitute composed of carbonated apatite with an anorganic bovine xenograft in particulate forms in a canine maxillary augmentation model, *Clinical Oral Implants Research*, 21 (2010) 1334-1344.
- [28] I.A. Karampas, C.G. Kontoyannis, Characterization of calcium phosphates mixtures, *Vibrational Spectroscopy*, 64 (2013) 126-133.
- [29] S.T. Kao, D.D. Scott, A review of bone substitutes, *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 19 (2007) 513-521.
- [30] B. Long, S. Liu, X. Zhang, L. Wang, Evaluation of a novel reconstituted bone xenograft using processed bovine cancellous bone in combination with purified bovine bone morphogenetic protein, *Xenotransplantation*, 19 (2012) 122-132.
- [31] N.N. Pathak, D.K. Pathak, P.D. Sharma, Mineral composition of antlers of three deer species reared in captivity, *Small Ruminant Research*, 42 (2001) 61-65.
- [32] B.T. Bezerra, J.C. de Almeida, R.C. Lopes, R.J.L. Lima, Autogenous bone

- graft versus bovine bone graft in association with platelet-rich plasma for the reconstruction of alveolar clefts: a pilot study, *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 52 (2023) 132-141.
- [33] A. A. Qabbani, H.G. Wang, J.B. Lin, Evaluation of decellularization process for developing osteogenic bovine cancellous bone scaffolds in-vitro, *PLoS One*, 18 (2023) e0283922.
- [34] M.L. Wong, L.G. Griffiths, Immunogenicity in xenogeneic scaffold generation: antigen removal vs. decellularization, *Acta Biomaterialia*, 10 (2014) 1806-1816.
- [35] D.W. Hutmacher, M. Sittlinger, M.V. Risbud, State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 1 (2007) 245-260.
- [36] T. Jensen, L. Schou, L. Svendsen, H. Forman, Maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss or Bio-Oss mixed with autogenous bone as graft in animals: a systematic review, *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 41 (2012) 114-120.
- [37] R. Manfro, M.J. Conz, G.T. Moura, F.A. Ponzoni, R.P. Santos, A.A. Gruber, Comparative, histological and histomorphometric analysis of three anorganic bovine xenogenous bone substitutes: Bio-Oss, Bone-Fill and Gen-Ox anorganic, *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 13 (2014) 464-470.
- [38] Y. Gao, X. Deng, W. Lin, H. Zhong, Characterization and osteoblast-like cell compatibility of porous scaffolds: bovine hydroxyapatite and novel hydroxyapatite artificial bone, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17 (2006) 815-823.
- [39] M.P. Ramírez Fernández, M.A. de Souza, F.J. Montoya, C.H.L. de Vasconcelos, SEM-EDX study of the degradation process of two xenograft materials used in sinus lift procedures, *Materials*, 10 (2017) 542.
- [40] P. Habibovic, M. C. Kruyt, M. V. Juhl, S. Clyens, R. Martinetti, L. Dolcini, N. Theilgaard, C. A. van Blitterswijk, Comparative in vivo study of six hydroxyapatite-based bone graft substitutes, *Journal of Orthopaedic Research*, 26 (2008) 1363-1370.
- [41] H.Y. Chang, W.H. Tuan, P.L. Lai, Biphasic ceramic bone graft with biphasic degradation rates, *Materials Science and Engineering: C*, 118 (2021) 111421.
- [42] R.Z. LeGeros, Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 395 (2002) 81-98.
- [43] R. Detsch, U. Mayr, B. Ziegler, F. Moser, D. Hofmann, K. Schaefer, The resorption of nanocrystalline calcium phosphates by osteoclast-like cells, *Acta Biomaterialia*, 6 (2010) 3223-3233.
- [44] A. Ogose, K. Hotta, H. Kawashima, T. Tokunaga, T. Endo, H. Umezu, H. Ito, Comparison of hydroxyapatite and beta tricalcium phosphate as bone substitutes after excision of bone tumors, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 72 (2005) 94-101.
- [45] J. Kim, S. Kim, I. Song, Biomimetic octacalcium phosphate bone has superior bone regeneration ability compared to xenogeneic or synthetic bone, *Materials*, 14 (2021) 5300.
- [46] R.C. Lopes, R.S. Silva, G.R. Pereira, F.A. Almeida, Bone-bioglass graft-an alternative to improve the osseointegration, *Processing and Application of Ceramics*, 16 (2022) 230-

- 236.
- [47] Y. Ling, H.J. Wang, S.P. Zhang, Improved the biocompatibility of cancellous bone with compound physicochemical decellularization process, *Regenerative Biomaterials*, 7 (2020) 443-451.
- [48] R.E. Unger, A. Sartoris, F. Boschetti, M. Steimberg, M.V. de Cillà, C. Colombo, M. Santin, In vivo biocompatibility investigation of an injectable calcium carbonate (vaterite) as a bone substitute including compositional analysis via SEM-EDX technology, *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (2022) 1196.
- [49] V.S. Komlev, E.V. Sergeeva, O.M. Barinov, Bioactivity and effect of bone formation for octacalcium phosphate ceramics, *Octacalcium Phosphate Biomaterials*, Woodhead Publishing (2020) 85-119.
- [50] E. Oprita, G.D. Perlea, A.L. Antonov, In vitro behaviour of osteoblast cells seeded into a COL/ $\beta$ -TCP composite scaffold, *Open Life Sciences*, 3 (2008) 31-37.
- [51] X. Zhang, H. Li, J. Liu, X. Zhu, Restoration of critical-sized defects in the rabbit mandible using autologous bone marrow stromal cells hybridized with nano- $\beta$ -tricalcium phosphate/collagen scaffolds, *Journal of Nanomaterials*, 2013 (2013) 913438.
- [52] J.E. Maté-Sánchez de Val, F. Monje, J.M.C. Solá-Ruíz, A. Balara, F.G. Giner-Tarrida, Comparison of three hydroxyapatite/ $\beta$ -tricalcium phosphate/collagen ceramic scaffolds: an in vivo study, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 102 (2014) 1037-1046.
- [53] M. Ebrahimi, M. Kazemzadeh-Narbat, S. Paul, K. Roy, R. Ghavami, H. Zhang, A.S. Khademhosseini, Fabrication and characterization of novel nano hydroxyapatite/ $\beta$ -tricalcium phosphate scaffolds in three different composition ratios, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 100 (2012) 2260-2268.
- [54] G. Jain, D. Blaauw, S. Chang, A comparative study of two bone graft substitutes—InterOss® Collagen and OCS-B Collagen®, *Journal of Functional Biomaterials*, 13 (2022) 28.
- [55] E. Solheim, Growth factors in bone, *International Orthopaedics*, 22 (1998) 410-416.
- [56] I. E. Bialy, W. Jiskoot, M.R. Nejadnik, Formulation, delivery and stability of bone morphogenetic proteins for effective bone regeneration, *Pharmaceutical Research*, 34 (2017) 1152-1170.
- [57] W. Wang, K.W.K. Yeung, Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: a review, *Bioactive Materials*, 2 (2017) 224-247.
- [58] M. Pfeiffenberger, J. Schröter, M. Liedert, F. Jakob, T. Bruckner, M. Amling, F. Jakob, Fracture healing research—shift towards in vitro modeling?, *Biomedicines*, 9 (2021) 748.
- [59] K.L. Ong, K.K. Villarraga, J.P. Lau, C.L. Carreon, M. Kurtz, Off-label use of bone morphogenetic proteins in the United States using administrative data, *Spine*, 35 (2010) 1794-1800.
- [60] V. Sreekumar, A. Kumar, M.J. Rosa, BMP9 a possible alternative drug for the recently withdrawn BMP7? New perspectives for (re-)implementation by personalized medicine, *Archives of Toxicology*, 91 (2017) 1353-1366.
- [61] Y. Zhang, J. Li, S. Wang, B. Liu, Addition of a synthetically fabricated osteoinductive biphasic calcium phosphate bone graft to BMP2 improves new bone formation, *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 18



- (2016) 1238-1247.
- [62] M.A. Miranda, M.S. Moon, Treatment strategy for nonunions and malunions, *Surgical Treatment of Orthopaedic Trauma*, 1 (2007) 77-100.
- [63] B. M. Wheatley, S. J. Yang, J. E. Urban, C. B. Hsu, J. C. Jacobs, J. E. Nerlich, Effect of NSAIDs on bone healing rates: a meta-analysis, *JAAOS-Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 27 (2019) e330-e336.
- [64] L. C. Gerstenfeld, W. J. Sarada, J. V. Charles, M. P. Stephen, R. T. William, Impaired fracture healing in the absence of TNF- $\alpha$  signaling: the role of TNF- $\alpha$  in endochondral cartilage resorption, *Journal of Bone and Mineral Research*, 18 (2003) 1584-1592.
- [65] S. Recknagel, A. Bindl, K. Kurz, D. Wehner, D. Ehrnthaller, R. J. Claes, M. R. Schuetz, Systemic inflammation induced by a thoracic trauma alters the cellular composition of the early fracture callus, *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 74 (2013) 531-537.
- [66] F. Batool, I. Struillou, F. Petit, B. Bugueno, P. Richard, C. Bruneau, Modulation of immune-inflammatory responses through surface modifications of biomaterials to promote bone healing and regeneration, *Journal of Tissue Engineering*, 12 (2021) 20417314211041428.
- [67] G. Zhou, B. Zhu, F. Jing, Y. Qiu, Y. Weng, Reducing the inflammatory responses of biomaterials by surface modification with glycosaminoglycan multilayers, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 104 (2016) 493-502.
- [68] H. Al-Khoury, M. T. Geoghegan, J. T. El-Sayed, M. A. Desmond, T. K. Thomas, Anti-inflammatory surface coatings based on polyelectrolyte multilayers of heparin and polycationic nanoparticles of naproxen-bearing polymeric drugs, *Biomacromolecules*, 20 (2019) 4015-4025.
- [69] T. Xu, K. Zhao, B. Cheng, Development of the biomaterials technology for the infection resistance, *Current Pharmaceutical Design*, 24 (2018) 886-895.
- [70] C. Gao, Z. Feng, L. Zhao, Q. Chen, X. Qiu, Enhancement mechanisms of graphene in nano-58S bioactive glass scaffold: mechanical and biological performance, *Scientific Reports*, 4 (2014) 4712.
- [71] S. Y. Park, J. Park, S. H. Sim, M. G. Sung, K. S. Kim, B. H. Hong, J. S. Nam, Enhanced differentiation of human neural stem cells into neurons on graphene, *Advanced Materials*, 23 (2011) H263.
- [72] X. Shi, Y. Tian, Y. Wang, Z. Wang, Regulating cellular behavior on few-layer reduced graphene oxide films with well-controlled reduction states, *Advanced Functional Materials*, 22 (2012) 751-759.
- [73] S. Kim, H. Kuang, A. Muller, L. Senyo, Graphene-biomineral hybrid materials, *Advanced Materials*, 23 (2011) 2009-2014.
- [74] P. G. Coelho, J. T. Granjeiro, S. J. Larsson, H. O. Hayashi, Argon-based atmospheric pressure plasma enhances early bone response to rough titanium surfaces, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 100 (2012) 1901-1906.
- [75] K. Duske, S. Koban, J. F. Kindel, W. Schröder, N. Nebe, Atmospheric plasma enhances wettability and cell spreading on dental implant metals, *Journal of Clinical Periodontology*, 39 (2012) 400-407.
- [76] B. D. Boyan, E. M. Lotz, Z. Schwartz, Roughness and hydrophilicity as

- osteogenic biomimetic surface properties, *Tissue Engineering Part A*, 23 (2017) 1479-1489.
- [77] L. Canullo, F. Menini, G. Schwarz, M. Tobar, M. P. Heinemann, Effects of argon plasma treatment on the osteoconductivity of bone grafting materials, *Clinical Oral Investigations*, 24 (2020) 2611-2623.
- [78] P. T. Vu, J. P. Conroy, A. M. Yousefi, The effect of argon plasma surface treatment on poly (lactic-co-glycolic acid)/collagen-based biomaterials for bone tissue engineering, *Biomimetics*, 7 (2022) 218.
- [79] G. Daculsi, A. Passuti, J. Martin, J. L. Deudon, M. Legeros, A. Raher, Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization, *Journal of Biomedical Materials Research*, 23 (1989) 883-894.
- [80] G. Daculsi, J. M. Bouler, A. LeGeros, M. A. LeGeros, B. Weiss, Formation of carbonate-apatite crystals after implantation of calcium phosphate ceramics, *Calcified Tissue International*, 46 (1990) 20-27.
- [81] S. Bose, S. Roy, A. Bandyopadhyay, Understanding of dopant-induced osteogenesis and angiogenesis in calcium phosphate ceramics, *Trends in Biotechnology*, 31 (2013) 594-605.
- [82] S. Minardi, G. Corradetti, S. Taraballi, A. P. Overby, G. V. Messina, R. Tasciotti, Evaluation of the osteoinductive potential of a bio-inspired scaffold mimicking the osteogenic niche for bone augmentation, *Biomaterials*, 62 (2015) 128-137.
- [83] L. Stipniece, R. Salma-Ancane, M. Berzina-Cimdina, Strontium substituted hydroxyapatite promotes direct primary human osteoblast maturation, *Ceramics International*, 47 (2021) 3368-3379.
- [84] Z. Geng, Y. Wang, Y. Zhang, J. Qi, Nanosized strontium substituted hydroxyapatite prepared from egg shell for enhanced biological properties, *Journal of Biomaterials Applications*, 32 (2018) 896-905.
- [85] S. Chen, H. S. Guo, J. M. S. Lee, S. W. Tsai, Biomimetic synthesis of Mg-substituted hydroxyapatite nanocomposites and three-dimensional printing of composite scaffolds for bone regeneration, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 107 (2019) 2512-2521.
- [86] L. Bauer, G. Zlotnikov, J. A. Ziegelmeier, A. Müller, Bone-mimetic porous hydroxyapatite/whitlockite scaffolds: preparation, characterization and interactions with human mesenchymal stem cells, *Journal of Materials Science*, 56 (2021) 3947-3969.
- [87] K. H. Park, Y. K. Jang, K. J. Jang, J. J. Kim, S. H. Lee, Zinc promotes osteoblast differentiation in human mesenchymal stem cells via activation of the cAMP-PKA-CREB signaling pathway, *Stem Cells and Development*, 27 (2018) 1125-1135.
- [88] E. A. Ofudje, O. A. Akinbile, B. O. Olanrewaju, Synthesis and characterization of Zn-Doped hydroxyapatite: scaffold application, antibacterial and bioactivity studies, *Heliyon*, 5 (2019).
- [89] K. Matsunaga, H. Murata, Formation energies of substitutional sodium and potassium in hydroxyapatite, *Materials Transactions*, 50 (2009) 1041-1045.
- [90] Y. Sugiura, Y. Makita, Sodium induces octacalcium phosphate formation and enhances its layer structure by affecting the hydrous layer phosphate, *Crystal Growth & Design*, 18 (2018) 6165-6171.
- [91] A. Fakharzadeh, F. Mohammadi, M. Rahimzadeh, K. Javad, Effect of dopant

- loading on the structural features of silver-doped hydroxyapatite obtained by mechanochemical method, *Ceramics International*, 43 (2017) 12588-12598.
- [92] C. Shi, Y. L. Zhang, W. P. Xiao, G. Zhang, X. Y. Liu, Ultra-trace silver-doped hydroxyapatite with non-cytotoxicity and effective antibacterial activity, *Materials Science and Engineering: C*, 55 (2015) 497-505.
- [93] M. Germaini, J. C. Orsola, G. H. Pineda, Osteoblast and osteoclast responses to A/B type carbonate-substituted hydroxyapatite ceramics for bone regeneration, *Biomedical Materials*, 12 (2017) 035008.
- [94] T. Kasai, R. Sekine, K. Kawai, S. Okada, S. Mizuno, Bone tissue engineering using porous carbonate apatite and bone marrow cells, *Journal of Craniofacial Surgery*, 21 (2010) 473-478.
- [95] S. Hesaraki, A. Sharifi, M. Zamanian, S. B. Salahshoor, Comparative study of mesenchymal stem cells osteogenic differentiation on low-temperature biomineralized nanocrystalline carbonated hydroxyapatite and sintered hydroxyapatite, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 102 (2014) 108-118.
- [96] K. Pajor, L. Pajchel, J. Kolmas, Hydroxyapatite and fluorapatite in conservative dentistry and oral implantology—a review, *Materials*, 12 (2019) 2683.
- [97] V. Uskoković, M. A. Iyer, V. M. Wu, One ion to rule them all: the combined antibacterial, osteoinductive and anticancer properties of selenite-incorporated hydroxyapatite, *Journal of Materials Chemistry B*, 5 (2017) 1430-1445.
- [98] K.L. Pang, K.Y. Chin, Emerging anticancer potentials of selenium on osteosarcoma, *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (2019) 5318.
- [99] A. Ressler, Z. Manić, I. Lukić, B. Petrović, V. Panić, M. Jovanović, Ionic substituted hydroxyapatite for bone regeneration applications: A review, *Open Ceramics*, 6 (2021) 100122.
- [100] H. S. Kim, S. G. Kumbar, S. P. Nukavarapu, Biomaterial-directed cell behavior for tissue engineering, *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 17 (2021) 100260.
- [101] C. J. Wilson, R. E. Clegg, M. T. Leavesley, M. J. Pearcy, Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: a review, *Tissue Engineering*, 11 (2005) 1-18.
- [102] B. Geiger, A. Bershadsky, R. Pankov, K. M. Yamada, Transmembrane crosstalk between the extracellular matrix and the cytoskeleton, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2 (2001) 793-805.
- [103] T. J. Webster, R. W. Siegel, R. Bizios, Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics, *Journal of Biomedical Materials Research*, 51 (2000) 475-483.
- [104] Y. Tian, B. Zhou, L. M. Park, C. F. Sun, Z. Wang, Surface energy-mediated fibronectin adsorption and osteoblast responses on nanostructured diamond, *Journal of Materials Science & Technology*, 35 (2019) 817-823.
- [105] A. B. Faia-Torres, M. M. Charnley, D. Goren, R. G. Darga, G. M. Neff, Differential regulation of osteogenic differentiation of stem cells on surface roughness gradients, *Biomaterials*, 35 (2014) 9023-9032.
- [106] M. M. Ouberai, K. Xu, M. E. Welland, Effect of the interplay between protein and surface on the properties of adsorbed protein layers, *Biomaterials*, 35 (2014) 6157-6163.

- [107] R. M. Visalakshan, A. Pham, S. Jin, M. T. Clark, M. S. Ranganathan, A. L. Wood, Biomaterial surface hydrophobicity-mediated serum protein adsorption and immune responses, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11 (2019) 27615-27623.
- [108] K. M. Hotchkiss, N. M. Clark, R. Olivares-Navarrete, Macrophage response to hydrophilic biomaterials regulates MSC recruitment and T-helper cell populations, *Biomaterials*, 182 (2018) 202-215.
- [109] P. Černochová, D. Tománková, T. Hradilová, A. Nebesářová, R. Peterková, A. Martynková, Cell type specific adhesion to surfaces functionalised by amine plasma polymers, *Scientific Reports*, 10 (2020) 1-14.
- [110] S. Guo, K. Liang, S. Hong, Tailoring polyelectrolyte architecture to promote cell growth and inhibit bacterial adhesion, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10 (2018) 7882-7891.
- [111] E. Mariani, A. Lisignoli, R. Borzì, B. Pulsatelli, Biomaterials: foreign bodies or tuners for the immune response?, *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (2019) 636.
- [112] J. N. Barbosa, A. C. Martins, R. F. Gadelha, The influence of functional groups of self-assembled monolayers on fibrous capsule formation and cell recruitment, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 76 (2006) 737-743.
- [113] S. Kamath, H. Bhushan, A. Chakrabarti, S. R. Murthy, S. Basu, Surface chemistry influences implant-mediated host tissue responses, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 86 (2008) 617-626.
- [114] L. R. Jaidev, K. Chatterjee, Surface functionalization of 3D printed polymer scaffolds to augment stem cell response, *Materials & Design*, 161 (2019) 44-54.
- [115] I. Beitlitum, H. Magdassi, T. George, E. Gazit, A. T. Hoffman, A novel micro-CT analysis for evaluating the regenerative potential of bone augmentation xenografts in rabbit calvarias, *Scientific Reports*, 14 (2024) 4321.
- [116] S. J. Schambach, J. H. Bag, J. C. Lutz, M. Stark, C. G. Persing, Application of micro-CT in small animal imaging, *Methods*, 50 (2010) 2-13.
- [117] H. M. Jo, D. J. Kim, H. T. Seo, Application of modified porcine xenograft by collagen coating in the veterinary field: pre-clinical and clinical evaluations, *Frontiers in Veterinary Science*, 11 (2024) 1373099.
- [118] M. M. Figueiredo, J. A. F. Gamelas, A. G. Martins, Characterization of bone and bone-based graft materials using FTIR spectroscopy, *Infrared Spectroscopy-Life and Biomedical Sciences*, (2012) 315-338.
- [119] H. Liu, C. Wei, X. Wu, An in vitro evaluation of the Ca/P ratio for the cytocompatibility of nano-to-micron particulate calcium phosphates for bone regeneration, *Acta Biomaterialia*, 4 (2008) 1472-1479.
- [120] K.F. Tseng, H.L. Huang, W.J. Lin, H.Y. Chang, W.S. Lin, H.Y. Chen, Osseointegration potential assessment of bone graft materials loaded with mesenchymal stem cells in peri-implant bone defects, *International Journal of Molecular Sciences*, 25 (2024) 862.
- [121] I. Beitlitum, H. Magdassi, T. George, E. Gazit, A. T. Hoffman, A novel micro-CT analysis for evaluating the regenerative potential of bone augmentation xenografts in rabbit calvarias, *Scientific Reports*, 14 (2024) 4321.
- [122] Y. K. Lee, J. H. Choi, K. W. Park, H. Y. Cho, Micro-CT and histomorphometric study of bone regeneration effect with

- autogenous tooth biomaterial enriched with platelet-rich fibrin in an animal model, *Scanning*, 2021 (2021) 6656791.
- [123] E. Mazzoni, P. Muraro, A. Coviello, F. Mastracci, D. M. Baldini, Enhanced osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells by a hybrid hydroxylapatite/collagen scaffold, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8 (2021) 610570.
- [124] A. A. Vu, B. J. Clark, S. J. Kennedy, Effects of surface area and topography on 3D printed tricalcium phosphate scaffolds for bone grafting applications, *Additive Manufacturing*, 39 (2021) 101870.
- [125] D. Boyd, J. R. Li, S. H. Thomas, Analysis of  $\gamma$ -irradiated synthetic bone grafts by  $^{29}\text{Si}$  MAS-NMR spectroscopy, calorimetry and XRD, *Journal of Non-Crystalline Solids*, 355 (2009) 2285-2288.
- [126] B. H. Gowda, K. Srikari, K. Ravishankar, Assessment of inorganic and organic components in demineralized tooth graft material, *AIP Conference Proceedings*, 2274 (2020) 1-4.
- [127] Z. Mladenovic, M. Maletic, T. Schlegel, U. Stern, B. Z. Markovic, Surface characterization of bone graft substitute materials conditioned in cell culture medium, *Surface and Interface Analysis*, 42 (2010) 452-456.
- [128] K. Hong, Analysis of crystal structure of bone graft material using analyses of X-ray diffraction and scanning electron microscope image, *Korean Academy of Preventive Dentistry*, 15 (2019) 215-219.
- [129] D. Bizari, K. G. Bogdanov, M. L. Almeida, Development of biphasic hydroxyapatite/dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) bone graft using polyurethane foam template: in vitro and in vivo study, *Advances in Applied Ceramics*, 110 (2011) 417-425.
- [130] J. Zhang, Z. X. Zhao, H. Huang, C. F. Liu, Improving osteogenesis of PLGA/HA porous scaffolds based on dual delivery of BMP-2 and IGF-1 via a polydopamine coating, *RSC Advances*, 7 (2017) 56732-56742.
- [131] A. N. Koo, K. H. Kim, H. S. Lee, C. B. Park, Enhanced bone regeneration by porous poly (L-lactide) scaffolds with surface-immobilized nano-hydroxyapatite, *Macromolecular Research*, 18 (2010) 1030-1036.
- [132] P. Danilevicius, K. K. Kucuk, B. T. Uz, The effect of porosity on cell ingrowth in 3D laser-fabricated biodegradable scaffolds for bone regeneration, *The European Conference on Lasers and Electro-Optics*, Optica Publishing Group (2013).
- [133] M. R. Shah, P. M. Patel, S. K. Bhatt, N. V. Patel, Estimation of drug absorption in antibiotic soaked bone grafts, *Indian Journal of Orthopaedics*, 50 (2016) 669-676.
- [134] P. Mazón, A. Marquina, E. Martinez, R. Garcia, M. J. Esbrit, Enhancing bone tissue regeneration with rGO-coated Si-Ca-P bioceramic scaffold, *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 63 (2024) 59-71.
- [135] S. Böttcher, B. Ganss, H. Neuhoff, T. Kaltenbach, An HPLC assay and a microbiological assay to determine levofloxacin in soft tissue, bone, bile and serum, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25 (2001) 197-203.
- [136] E. Verné, M. Bonini, G. Trossarelli, A. Piovani, Early stage reactivity and in vitro behavior of silica-based bioactive glasses and glass-ceramics, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20 (2009) 75-86.