



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2014년 2월
석사학위논문

2
0
1
4
년

2
월

석
사
학
위
논
문

티
타
니
아
나
노
입
자
를
이
용
한
치
과
용
임
플
란
트
픽
스
처
표
면
처
리

김
경
수

티타니아 나노 입자를 이용한 치과용 임플란트 픽스처 표면처리

조선대학교 대학원

치의생명공학과

김 경 수

티타니아 나노 입자를 이용한
치과용 임플란트 픽스처 표면처리

Surface Treatment of Dental Implant Fixture
Using Nano Titania Powder

2014년 2월 25일

조선대학교 대학원

치의생명공학과

김 경 수

티타니아 나노 입자를 이용한
치과용 임플란트 픽스처 표면처리

지도교수 김 수 관

이 논문을 공학석사학위신청 논문으로 제출함

2013년 10월

조선대학교 대학원

치의생명공학과

김 경 수

김경수의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 김병훈 (인)

위 원 조선대학교 교수 김수관 (인)

위 원 조선대학교 교수 김재성 (인)

2013년 11월

조선대학교 대학원

목 차

| | |
|--|----|
| ABSTRACT | v |
| I. 서론 | 1 |
| II. 실험 재료 및 방법 | 5 |
| 1. 실험재료 | 5 |
| 2. 실험장비 | 5 |
| 3. 티타니아 졸의 제조 | 5 |
| 4. 티타니아 졸을 이용한 픽스처 표면처리 | 8 |
| 5. 픽스처 표면에 형성된 티타니아 박막의 특성 분석 | 8 |
| 5-1. 티타니아 박막의 결정상 분석 | 8 |
| 5-2. 박막표면의 화학적 성분 분석 | 8 |
| 5-3. 박막표면의 거칠기 분석 | 9 |
| 5-4. 픽스처 표면의 미세 구조적 변화 관찰 | 9 |
| 6. 티타니아 표면처리 픽스처의 in vitro 생체안전성 분석 | 9 |
| 6-1. 세포주 및 세포배양 | 9 |
| 6-2. MTT 분석을 이용한 용출물 처리 및 세포 생존율 분석 | 9 |
| 6-3. 통계처리 | 10 |

| | |
|---|----|
| III. 결과 | 11 |
| 1. 픽스처 표면에 형성된 티타니아 박막의 특성 | 11 |
| 1-1. 티타니아 박막에 형성된 결정상의 특성 | 11 |
| 1-2. 박막표면의 화학적 성분특성 | 14 |
| 2. 티타니아 입자를 이용한 임플란트 픽스처 표면처리의 최적 조건 | 17 |
| 2-1. 박막표면에 형성된 거칠기의 특성 | 17 |
| 2-2. 픽스처 표면의 미세 구조적 변화 | 19 |
| 3. 티타니아 표면처리 픽스처의 in vitro 생체안전성 분석 | 23 |
| IV. 고찰 | 25 |
| V. 결론 | 28 |
| VI. 참고문헌 | 29 |

List of Figure

| | |
|--|----|
| Figure 1. The eletro-microscopic morphology of TiO ₂ powder (A & B), and the chemical structure of TiO ₂ rutile and anatase (C). | 3 |
| Figure 2. The schematic structure of TiO ₂ particule synthesited by sol-gel method. | 7 |
| Figure 3. XRD patterns of TiO ₂ films used by Titanium butoxide (reagent grade 97%)(A), Titanium butoxide (≥97%)(B) on dental implant fixture. | 12 |
| Figure 4. EDS mappings of TiO ₂ films used by Titanium butoxide (reagent grade 97%)(A), Titanium butoxide (≥97%)(B) on dental implant fixture. | 15 |
| Figure 5. EDS analysis of each atomic(%) used by Titanium butoxide (reagent grade 97%)(A), Titanium butoxide (≥97%)(B) on dental implant fixture. | 16 |
| Figure 6. AFM surface morphologies of TiO ₂ films at different coating conditions. | 18 |
| Figure 7. SEM images of TiO ₂ powders prepared using titanium butoxide (reagent grade 97%)(A), titanium butoxide (≥97%)(B) solution with different coated created by controlling anodizing potentials ranging scale bar, 300nm courtesy. | 20 |
| Figure 8. SEM images of TiO ₂ powders prepared using titanium butoxide (reagent grade 97%)(A), titanium butoxide (≥97%)(B) solution on dental implant fixture. | 22 |
| Figure 9. Cell cytotoxicities of TiO ₂ powder with dental implant fixture. | 24 |

List of Abbreviation

Titania, titanium dioxide (TiO₂)

Human Normal Oral Keratinocyte (HNOK)

X-ray diffraction (XRD)

Energy Dispersive Spectroscopy (EDS)

Atomic force microscope (AFM)

Scanning Electron Microscope (SEM)

Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (D-PBS)

Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)

Fetal Bovine Serum (FBS)

3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide, A Yellow Tetrazole (MTT)

ABSTRACT

Surface Treatment of Dental Implant Fixture Using Nano Titania Powder

Kyoung-Su Kim

Advisor : Prof. Su-Gwan Kim, DDS, Ph.D.

Department of Dental Biology

Graduates School of Chosun University

The physicochemical feature of implant surface is an important factor for a successful implant osseointegration. The researches related to this have been conducted to shorten healing period and to obtain a stable adhesion between implant surface and jawbone after implant placement. However, although the making methods of oxide film is various for implant surface is various, research for dental implant fixture is rarely conducted.

Recently, the research using nanostructured titania (titanium dioxide, TiO_2) has attracted the attention owing to the wide scope and excellence of nanoscale metal oxide semiconductor and photocatalytic reaction. Also, several researches show that structure of nano-titania has made nano scale-bony structure affected to osteoblast adhesion, proliferation and morphological kidney, and differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts.

The purpose of this study was to provide experimental basic data to increase utilization and availability of the material for implant fixture surface modification. Titania oxide sol containing nanoparticles was prepared and titania thin film on implant surface made by sol-gel method and analyzed its physicochemical characteristics. Finally, the cell viability

by MTT assay was performed to elutes from TiO₂-treated implant fixture. Main purpose of this study is to evaluate the availaility of oxide nanoparticles titania as functional materials for surface modification and besides, to confirm whether or not sol-gel method is useful to titania coating technology.

As a result, 10 implants of diameter 4.3mm, length 10mm were coated with a thin film on dental implant fixture using titania nanoparticles. The optimal mixture ratio of Titanium butoxide and Isoproply Alcohol was 5, 95 %, respectively and the optimal dipping time for sample coating was 4 times. Surface analysis showed that Ti and O composition detected in all experimental groups treated with titania nanoparticles and consequently, this data present that surface coated with titania and coating on surface was treated uniformly. Ti content of thin film showed highly in all experimental groups than the control expect for 25 degree-treated sample. The result of surface roughness analysis showed that surface roughness uniformly formed in 2 time coated-all groups. 97% of titanium butoxide treatedd relatively uniform the thin film on fixture surface. The elute from titania treated-fixtures did not affect cell viability.

In conclusion, the fixture treated with titania particles is non-toxic and effective surface appearance, and it showed an excellent effect on the initial bone formation after the implant. On the basis of this study, it is expected new surface treatment material of dental implant fixture, using titania and nano-technology, with more active research, would be developed. Also surface treatment by anodic oxidation technique, to compliment the weakness of sol-gel process, is expected to be complementary in order to increase the uniformity of the coated titania particles on the surface of the fixture and to enhance the adhesion of titania particles.

I. 서 론

임플란트는 티타늄이 연조직의 개재 없이 골과 직접 접촉하는 골유착의 개념 하에 결손치아를 대체하는 방법으로 임상에서 많은 발전이 있었다(Albrektsson T, *et al.*, 1986). 성공적인 임플란트 식립을 위하여 임플란트의 표면은 골 유착에 영향을 미치는 중요한 요소이다(Brser D, *et al.*, 1991). 임플란트 표면의 산화막을 변화시켜 임플란트 식립 후 치유기간을 단축시키고, 임플란트와 골의 안정적인 결합을 얻기 위해 임플란트 표면에 대한 지속적인 연구가 진행되어 왔다(송호준, 2010 ; Le Guehenec L, *et al.*, 2007 ; 이중배, 2008). Buser 등은 임플란트 골 유착에 관여하는 여러 요소 중에서, 임플란트 자체의 표면성질이 골 유착 속도에 중요한 영향을 준다고 하였고, 1996년 Schwartz는 최적의 골 유착을 얻기 위해서 임플란트 표면특성 즉, 표면 거칠기(roughness), 표면 에너지(surface energy), 표면 조성(composition), 표면 형태(topography)의 정확한 조합이 필요하며, 이러한 임플란트 표면 특성이 임플란트 식립 후 초기 치유과정에서 세포 부착 및 증식, 단백질 흡착에 중요한 역할을 한다고 하였다(Buser D, *et al.*, 1999 ; Buser D, *et al.*, 1991 ; Schwartz Z, *et al.*, 1994 ; Schwartz Z, *et al.*, 1997 ; Schwartz Z, *et al.*, 1999). 표면 거칠기를 부여하는 표면처리 방법으로는 블라스팅(blasting), 산에칭(acid etching), 양극산화법(amodizing), 졸겔법(sol-gel) 등이 있다.

표면 거칠기를 변화시키는 것뿐만 아니라, 산화막의 화학적 처리와 조성을 변화시킴으로써 생체 활성도를 높이고자 하는 다양한 시도들도 있다. 화학적 처리를 통해 임플란트 표면을 전기적으로 음으로 하전시킴으로써 생체 내 칼슘 이온의 빠른 흡착을 꾀하기도 하고, 칼슘, 인, 마그네슘, 불소 이온과 같은 골 성장에 친숙한 특정 이온들을 임플란트 표면에 주입시키는 방법들도 이용되고 있다(Yang B, *et al.*, 2004 ; Sul YT, *et al.*, 2005 ; Sul YT, *et al.*, 2005 ; Sul YT, *et al.*, 2009).

표면 거칠기를 부여하는 방법 중에서 본 연구에서는 졸겔법을 이용한 표면 거칠기를 부여하는 방법을 이용하여 실험하였다. 일반적으로 졸겔 공정이라는 용융성을 띤 졸(sol)로부터 반고체와 같은 점탄성 특성을 나타내는 겔(gel)로의 전이를 포함하는 일련의 과정을 일컫는다. 즉, 출발물질을 가수분해

및 중·축합 반응시켜 1 μ m 크기 이하인 콜로이드(colloid) 입자가 분산되어 있는 졸 상태의 화합물로 만든 후 이 입자들이 3차원적으로 결합된 망목구조를 갖는 젤을 형성시킨 다음 하소(calcination) 또는 열분해(pyrolysis)하여 산화물 또는 복합 산화물을 만드는 방법이다. 출발원료는 가용성의 알콕사이드(alkoxide), 염, 산화물, 수산화물 및 착물들이 있지만 이중 가장 보편적으로 사용되고 있는 것은 알콕사이드이다. 1950년대에 시작된 이 방법은 1980년대까지 많은 관심을 끌지 못하였으나, 현재 졸겔법은 세라믹스 분말, 모놀리스(monolith), 섬유상 및 박막 제조 등을 위하여 산업계 및 학계에서 활발하게 연구되고 있는 제조 공정이다(Yasumori. A, *et al.*, 1994). 티타늄 알콕사이드를 졸겔법에 의하여 이산화티탄을 제조하는 방법은 일반적인 제조공정으로 알콕사이드를 알코올 등의 용매에 용해시키고, 별도로 제조한 물을 포함한 알코올 등과 일정비로 혼합하여 알콕사이드를 가수 분해시키고 겔과, 건조, 소성하여 TiO₂를 제조할 수 있다. 이 공정은 가수 분해된 졸의 상태에 기판에 도포하는데도 사용이 가능하며 졸 용액은 알콕사이드 농도, 알콕사이드/물의 비 등의 변화에 의해서 물성과 안정도가 영향을 받는다. 이 밖에도 많은 제조방법들이 있으며 많은 연구가 이루어지고 있다.

최근에는 나노기술의 발전으로 재료 표면의 나노처리가 가능하게 되었고, 나노구조(nano-scale)에 대한 세포 반응 관찰이 가능해짐에 따라, 세포가 주변 미세 환경에 민감하게 반응한다는 다수의 연구가 보고되고 있는데 1997년 Chen 등은 세포의 생사가 주위 환경의 지형(geometry)에 의해 결정된다고 하였고, Engler 등은 세포의 운명이 미세 환경의 탄성(elasticity)에 영향을 받는다고 하였다(Chen CS, *et al.*, 1997 ; Engler AJ, *et al.*, 2006). 이에 생체 재료 표면에 세포와 거의 같거나 더 작은 크기의 구조를 가지는 나노크기의 구조를 제조하여 세포의 거동, 형태 및 진화를 탐구하는 노력이 있어왔다(Cavalcanti-Adam EA, *et al.*, 2006).

최근 반도체 성질의 나노크기 금속산화물 또는 광촉매 반응의 활용범위가 광범위하고 반응성의 우수함이 부각되어 나노구조의 티타니아(Titania, titanium dioxide, TiO₂)를 이용한 연구가 관심을 받고 있다(Fig. 1-(A), (B)). 티타니아는 anatase와 rutile, brookite의 3가지 결정이 존재한다. Fig. 1-(C)와 같은 구조식을 띄고 있으며, 그 중에서 anatase상은 약간 높은 띠틈격을 가지며, 광 효율도 높다고 한다.

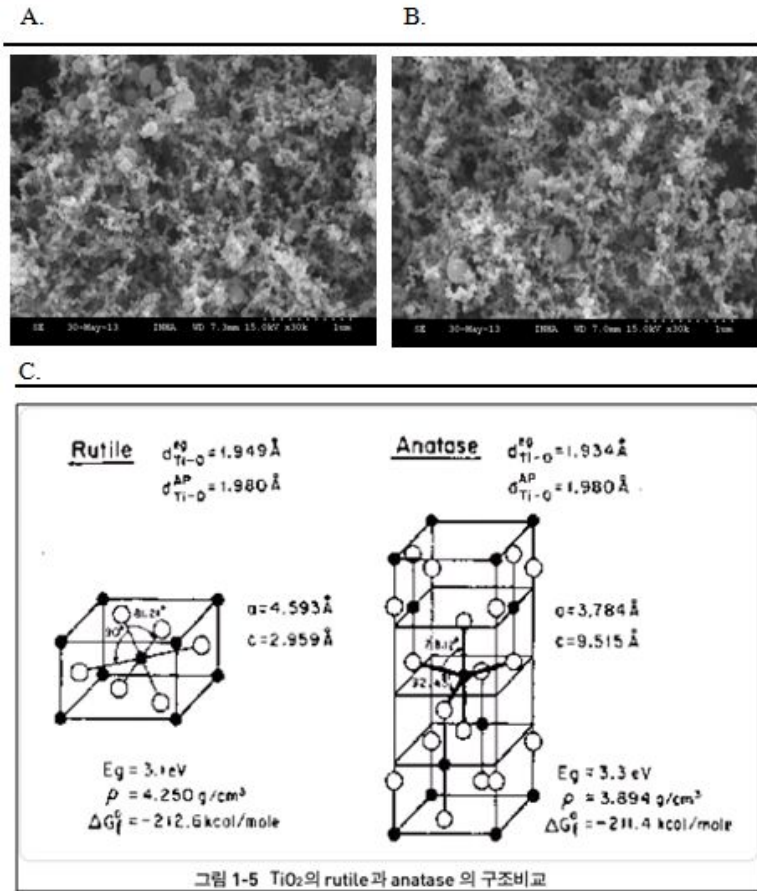


Fig. 1. The eletro-microscopic morphology of TiO₂ powder (A & B), and the chemical structure of TiO₂ rutile and anatase (C).

이러한 티타니아 나노구조는 나노 단위의 골성물질(hydroxyapatite)를 생성 시키며, 조골세포의 부착, 증식 및 형태학적 신장, 중간엽 줄기 세포의 조골세포로의 분화에 영향을 주었다는 연구 보고가 있다 (Brammer KS, *et al.*, 2009 ; Oh S, *et al.*, 2005 ; Oh S, *et al.*, 2006 ; Oh S, *et al.*, 2006). 티타니아는 독성이 없고 광활성이 우수하며 화학적으로 안정하고 비교적 값이 저렴하다는 장점이 있어 항균타일, 자기 정화형 램프, anti-fogging 거울 그리고 탈취 fiber 등의 제품에 응용되어 시중에 판매되고 있다(Negishi. N, *et al.*, 1995). 치과용 임플란트 분야에서는 아르곤가스와 고온 분사 방식을 이용한 티타니아 입자의 픽스처 표면으로의 코팅처리에 관한 연구가 이루어졌으나 분사입자가 표면에서 박리되어 주변 골에 잔존할 가능성이 있고, 표면의 거칠기가 커서 금속이온 용출이 발생하므로 골 유착이 감소한다는 보고가 있다 (김영훈, 2007). 그러나 다양한 코팅처리법에 의한 임플란트 픽스처 표면개질에 관하여 국내외적으로 거의 연구되어지지 않았으며, 티타니아의 표면개질을 위한 소재로서의 가치평가에 관한 연구도 미약한 상태다.

그러므로 본 연구의 목적은 티타니아 나노입자가 임플란트 픽스처 표면개질을 위한 소재로서의 가능성과 활용도를 높이기 위한 실험적 기초자료를 제시하는 것이다. 이를 위하여 산화 티타니아 나노입자가 함유된 졸과 박막을 제조하여 그 특성을 분석하고, 졸-겔법을 이용하여 나노분말을 픽스처의 표면에 처리한 후, 코팅된 표면의 물리화학적 특성 및 용출물의 세포독성 유무를 분석함으로써 픽스처 표면개질을 위한 기능성 소재로서 산화티타니아 나노입자의 실험적 평가와 코팅처리 기술의 적합성 유무를 분석하고자 한다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험재료

이번 연구에서는 직경 4.3 mm, 길이 10 mm의 표면처리가 되지 않은 임플란트 10개(DENTIS[®], DENTIS, Dae-Gu, Republic of Korea)를 사용하였다. 임플란트는 internal submurg의 형식으로 2개는 대조군으로, 8개는 실험군으로 사용하였다.

본 실험에서 사용한 TiO₂는 순도에 따른 변화를 관찰하기 위하여 Titanium butoxide(IV)(244112, reagent grade 97%, Sigma-Aldrich Co., Oakville, Canada)과 Titanium butoxide(IV)(86910, purum, ≥97%, gravimetric, Sigma-Aldrich Co., Oakville, Canada)에서 구입하여 사용하였다.

2. 실험장비

코팅된 박막의 구조 및 결정, 그리고 성분을 분석하기 위하여 X-ray diffraction(XRD)(D/MAX-2200/PC, Rigaku Co., Tokyo, Japan) 및 Energy Dispersive Spectroscopy(EDS)(S-4700, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 사용하였고, 표면 거칠기를 측정하기 위해 Atomic force microscope(AFM)(XE-100, Park Systems Co., CA, USA)를 이용하였다. 그리고 표면 변화를 관찰하기 위해 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, SEM)(S-800, Hitachi Co., Tokyo, Japan)을 이용하였다.

3. 티타니아 졸의 제조

졸은 Titanium butoxide과 Isopropyl Alcohol을 혼합하여 제조하였다. 조성은 Titanium butoxide : Isopropyl Alcohol = 5 : 95로 하였다.

먼저, 적정온도로 조제된 교반기에서 Titanium butoxide를 넣은 다음

magnetic bar로 교반시키면서 colloid로 용액화(peptization)하였다. 반응 초기에는 반응에서 수반되는 알코올을 날려 보내기 위해 봉공처리(sealing)을 하지 않았으며 알코올이 완전히 날아간 후에 봉공처리를 하였다. 줄꺾법을 이용한 과정을 Fig. 2와 같이 간단한 모식도로 정리할 수 있다.

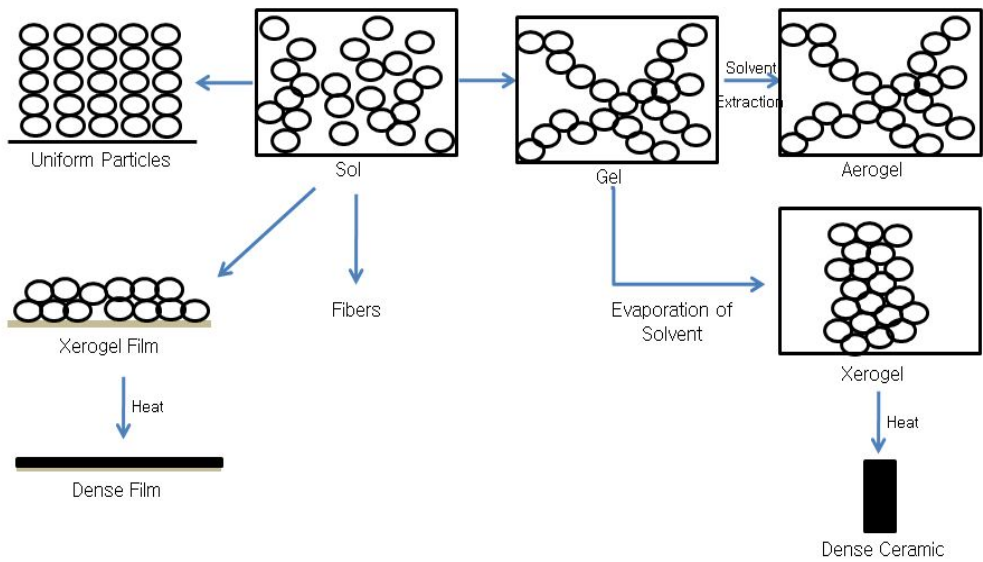


Fig. 2. The schematic structure of TiO₂ particle synthesized by sol-gel method.

4. 티타니아 졸을 이용한 픽스처 표면처리

실험에 사용된 치과용 임플란트 픽스처는 코팅 시에 막의 부착능력을 강화하기 위하여 유리 기관에 있는 기름, 때를 아세톤과 증류수에서 각각 30분씩 초음파세척을 실시하고 상온에서 건조하여 사용하였다.

각 시편은 제조된 졸을 이용하여 dip coating법에 의해 친수성 막을 형성하였다. Dip coating법은 코팅 용액에 기관을 침지한 후 인상하는 방법으로 코팅막을 제조하는 방법 중 가장 간단하고 편리한 방법일 뿐만 아니라 용액을 다시 사용할 수 있는 장점을 가지고 있다(김건우, 2007). 막의 두께를 일정하게 하기 위해 코팅조건은 세척한 픽스처를 기관으로 하고 제조된 졸을 적하하고 600rpm의 회전속도로 30초 동안 수회에 걸쳐서 코팅하였다.

5. 픽스처 표면에 형성된 티타니아 박막의 물리화학적 특성 분석

5.1. 티타니아 박막의 결정상 분석

XRD는 Bragg's law로 나타내며 이는 보강간섭이 일어날 때 적용되며 이 X선 회절 현상을 이용하여 각종 물질의 물질구조를 밝히는데 폭넓게 사용되어진다.

졸겔법으로 제조된 티타니아 박막의 결정구조를 분석하기 위하여 XRD(D/MAX-2200/PC, Rigaku Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 확인하였다. 상온에서 $2\theta = 5^\circ - 80^\circ$ 범위에서 측정하였다. 측정조건은 CuK α 타겟을 사용하였으며, 전압은 40kV와 전류는 30mA, 스캔 스피드는 분당 4° 로 시행하였다.

5.2. 박막 표면의 화학적 성분 분석

졸겔법으로 제조된 티타니아 박막의 원소 분석을 확인하기 위하여 EDS(S-4700, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 이용하였다. EDS는 지금 0.1 μ m 정도의 미세한 영역에 가속전자를 조사하여 시료 내로 입사된 전자와 시료를 구성하는 원자들간의 상호작용으로 발생하는 특성 X-선(characteristic x-ray)로부터 시료의 구성요소들의 성분과 조성을 알아내는 분석법으로 사용

되고 있다. 상온에서 입사전자빔의 에너지는 4.5 ~ 49.0 keV의 범위로 0.5 keV씩 증가시키면서 분석하였으며 $\Theta=0^\circ$, $\Psi=35^\circ$ 로 고정시켜 수행하였다.

5.3. 박막 표면의 거칠기 분석

표면처리에 따른 표면 거칠기 비교 분석을 위하여 AFM(XE-100, Park Systems Co., CA, USA)를 이용하여 측정모드는 non-contact로 Scan size 30 x 30 μ m, Scan Rate : 0.3Hz로 분석하였다.

5.4. 픽스처 표면의 미세 구조적 변화 관찰

박막 시편들의 표면 상태를 관찰하기 위해서 SEM(Hitachi Co., Tokyo, Japan, S-800)을 이용하였다.

그 후, 각각의 사진을 관찰하고 분석하여 임플란트 미세표면 구조변화 유무 및 티타니아 나노 입자 크기와 모양 및 배열상태를 알아보았다.

6. 티타니아 표면처리 픽스처의 *in vitro* 생체 안전성 분석

6-1. 세포주 및 세포배양

본 실험에 사용한 Human Normal Oral Keratinocyte(HNOK)는 Science Cell Research Laboratories(Carlsbad, CA, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

HNOK는 10% Fetal bovine serum(FBS)(Gibco, Grand Island, NY, USA), 100unit/mL penicillin, 100 μ g/mL streptomycin(Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)를 첨가한 Dulbecco's Modified Eagle's medium(DMEM)(Gibco, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 배양하였다.

6-2. MTT 분석을 이용한 용출물 처리 및 세포 생존율 분석

제조된 픽스처의 체내 적합성 및 안정성을 평가하기 위하여 본 연구에서는 한국 식품 의약품 안전처(Ministry of Food and Drug Safety, MFDS)의 “의료기기의 생물학적 안전에 관한 공동기준규격(식약청 고치 제2006-32호)” 제9장 ‘검체 준비와 표준물질’에 의거하여 세포독성실험 및 안정성 평가에 의거하여 용출액을 제조하였다.

제조된 픽스처를 고압멸균 처리 후, 10% FBS(Gibco, Grand Island, NY, USA)가 포함되지 않은 DMEM(Gibco, Grand Island, NY, USA) 배지에서 각각 0.1g/mL 농도로 침전시키고, 37°C에서 72시간 동안 용출을 시행하였으며, 세포독성 평가는 MFDS에 의해 제시된 “의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통기준규격 (고시 제2006-32호)에 의거하여 MTT assay(3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-Diphenyltetrazolium Bromide, A Yellow Tetrazole)를 시행하였다. HNOK를 각각 96 well cell culture plate에 1×10^4 cells/well의 농도로 10% FBS와 1% Penicilin/streptomycin이 포함된 DMEM 배지와 함께 분주하였다. 무혈청 배지에서 용출시킨 반응물을 첨가한 후 24 시간 동안 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양시켰다. 용출액을 첨가하지 않은 대조군 배지와 용출액을 첨가한 배지에 각각 MTT 용액을 20 μ L씩 처리하고, 5% CO₂, 37°C 조건에서 4시간 동안 반응시켰다. 배지를 제거하고 Dimethyl Sulfoxide(DMSO)를 200 μ L씩 처리하여 MTT 용액에 의해 형성된 crystal for mazan을 용해시켜 ELISA Reader(EPOCA; Biotek instruments inc, USA)를 이용하여 흡광도(Optical density, OD 540nm)를 측정하였으며, 독립적인 동일 실험을 3회 반복하여 수행하였다.

6-3. 통계처리

각각의 실험들은 반복 실험하였으며, 실험결과는 평균값 \pm 표준편차로 계산하여 측정하였으며, 대조군 간의 유의성은 One way analysis of varienced(ANOVA)로 검정한 후, Newman-Kleult test로 검정하였다. 모든 자료는 SPSS 10.0을 이용하여 실험결과를 분석 처리하였다. $p < 0.05$ 이하인 경우에 실험결과가 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. 픽스처 표면에 형성된 티타니아 박막의 특성

1.1. 티타니아 박막에 형성된 결정상의 특성

XRD 측정에 의해 전구체에 따른 시험 1, 2군의 피크 변화와 딥 코팅 횟수에 따른 박막의 특성을 조사하였다. Fig. 3과 4는 코팅 횟수에 따른 픽스처 위에 코팅한 TiO_2 박막의 XRD pattern이다. 여기서 TiO_2 박막은 상온에서 $2\theta = 5^\circ - 80^\circ$ 범위에서 측정하였다. 실험군은 코팅 횟수에 따라서 1, 2, 3, 4회로 시행하여 총 4군으로 하였다. XRD 결과, Fig. 3에서 보이듯이 대조군에서는 35, 39, 41, 59°에서 결정 피크가 관찰됨으로써 일반적인 타이타늄 결정 피크와 동일한 모습을 보였습니다. Titanium butoxide(reagent grade 97%)를 사용한 실험 1군에서도 일반적인 타이타늄과 동일한 구간에서 피크를 보였으나 25° 부근에서 피크가 발생하였다. 이는 방향성 및 TiO_2 화되면서 발생한 미지의 화합물이 생성된 것으로 예측할 수 있었다.

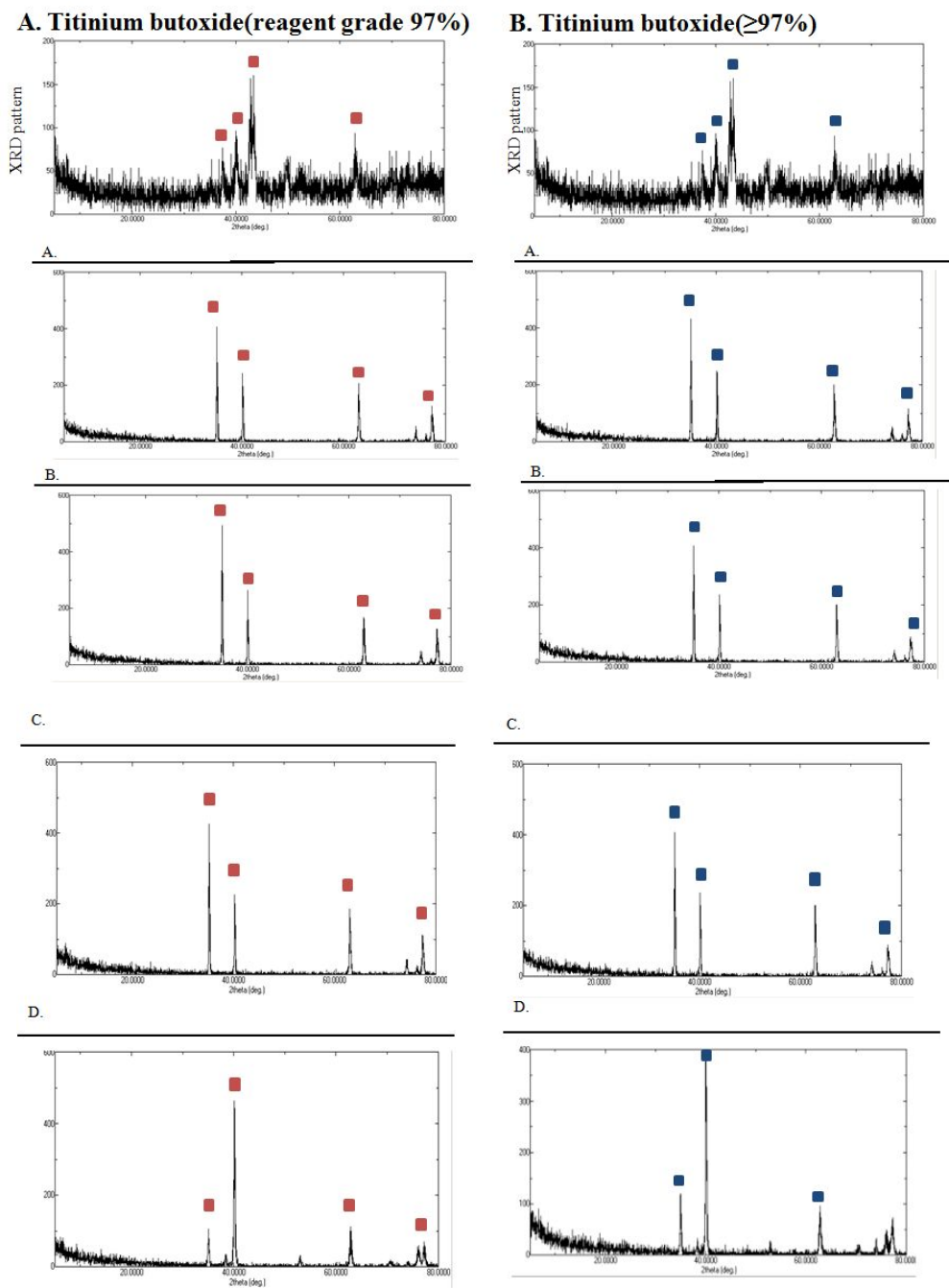


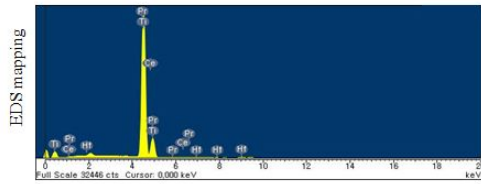
Fig. 3. XRD patterns of TiO_2 films used by Titanium butoxide(reagent grade 97%)(A), Titanium butoxide($\geq 97\%$)(B) on dental implant fixture.

두 번째 실험 2군에서는 Titanium butoxide($\geq 97\%$)를 사용한 군으로 실험 1군과 동일한 조건으로 수행하였으며, 1군과 같이 일반적인 타이타늄과 비슷한 rutile상이 분석되었으며, 피크의 끝이 날카로워지고 25° 부근에서 다시 한 번 피크가 발생하였다. 결론적으로, XRD 촬영결과를 통합적으로 분석하여 볼 때, 모든 실험군에서 Ti의 함량이 높아졌으나 미지의 화합물이 발생하였다 (Fig. 3).

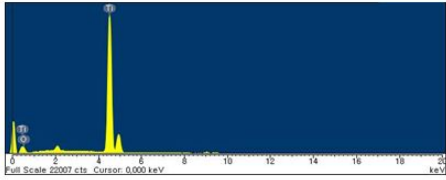
1.2. 박막표면의 화학적 성분 특성

EDS(S-4700, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 에너지전자빔의 에너지는 4.5 ~ 49.0keV의 범위로 0.5keV씩 증가시키면서 분석하였으며 $\Theta = 0^\circ$, $\Psi = 35^\circ$ 로 표면의 원소를 비교 분석하였다. Fig. 4에서 보이듯이 실험 1, 2군의 대조군에서는 O가 발생하지 않고, Ti함량이 97, 98% 정도로 매우 높게 나타났으며, Ce를 비롯한 기타 화합물이 2 ~ 3%정도 발생하였다. 하지만, 실험 1군(Titanium butoxide(reagent grade 97%))에서는 Ti 함량이 각각 51, 51, 42, 29%로 대조군에서 비하여 O의 함량이 검출되고 기타 원소의 출현이 없었으므로 TiO_2 코팅이 이루어진 것으로 판단된다. 실험 2군(Titanium butoxide($\geq 97\%$))에서도 1군과 마찬가지로 Ti와 O의 함량만 검출됨으로써 모든 실험군의 원소 분석 결과, 치과용 임플란트 픽스처의 표면에 Ti와 O를 포함한 산화물로 이루어진 것으로 추측할 수 있다(Fig. 5).

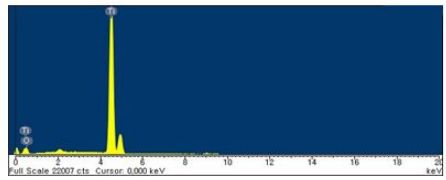
A. Titanium butoxide(reagent grade 97%)



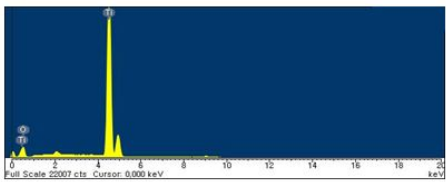
A.



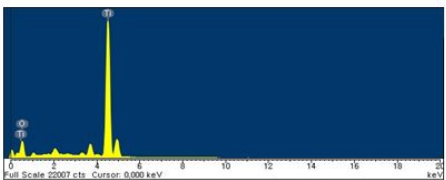
B.



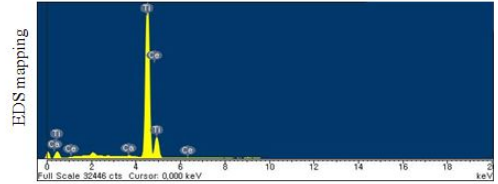
C.



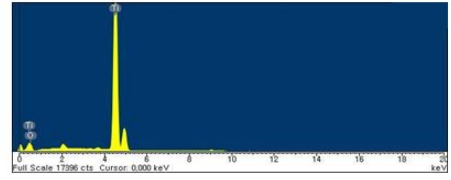
D.



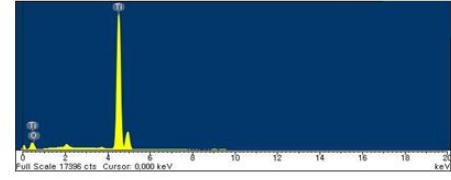
B. Titanium butoxide($\geq 97\%$)



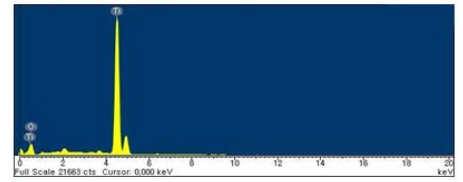
A.



B.



C.



D.

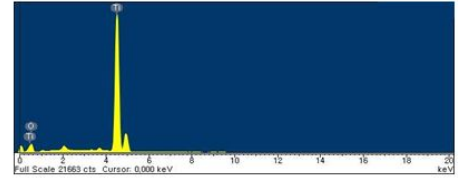


Fig. 4. EDS mappings of TiO_2 films used by Titanium butoxide(reagent grade 97%)(A), Titanium butoxide($\geq 97\%$)(B) on dental implant fixture.

| ATOMIC (%) | A1 | A2 | A3 | A4 | B1 | B2 | B3 | B4 | Control A | Control B |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|-----------|
| O | 48.99 | 48.58 | 58.66 | 70.59 | 48.73 | 40.74 | 63.55 | 58.82 | - | - |
| Ti | 51.01 | 51.42 | 41.34 | 29.41 | 51.27 | 59.26 | 36.45 | 41.18 | 97.91 | 98.86 |
| Ce | - | - | - | - | - | - | - | - | 1.19 | 0.69 |
| Pr | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.46 | - |
| Hf | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.44 | - |
| Cl | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.46 |
| total | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

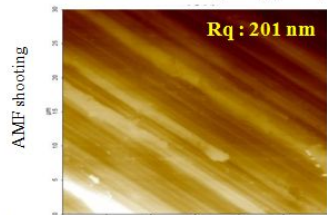
Fig. 5. EDS analysis of each atomic(%) used by Titanium butoxide(reagent grade 97%)(A), Titanium butoxide($\geq 97\%$)(B) on dental implant fixture.

2. 티타니아 입자를 이용한 임플란트 픽스처 표면처리의 최적 조건

2.1. 박막 표면에 형성된 거칠기의 특성

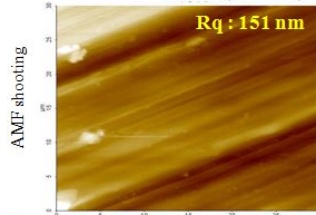
AFM(XE-100, Park Systems Co., CA, USA)를 이용하여 측정모드는 non-contact로 Scan size 30 x 30 μm , Scan Rate : 0.3Hz로 표면 거칠기를 비교 측정하였다. 본 연구에서 제조된 대조군 A, B의 박막의 경우는 각 201nm, 151nm였으며, Fig. 6과 같이 실험 1군(Titanium butoxide(reagent grade 97%))은 19 ~ 50nm로 평균 32.5nm, 실험 2군(Titanium butoxide(\geq 97%))에서는 27 ~ 81nm로 평균 45nm였다. 모든 실험군에서 대조군에 비하여 거칠기가 좋아졌음을 알 수 있으나, 실험 1군과 2군 모두 3회 이상 dip coating시 표면의 크랙이 발생하여 거칠기가 균일하지 못했다고 판단되며 각 실험군의 1, 2회 코팅한 시편에서 거칠기가 균일했다고 볼 수 있었다.

A. Titanium butoxide(reagent grade 97%)

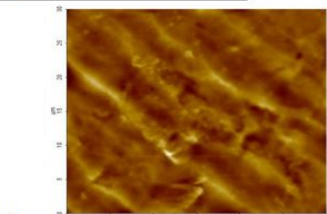


A.

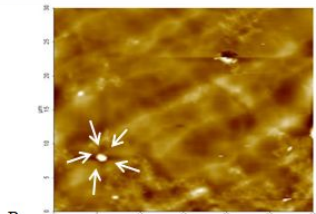
B. Titanium butoxide($\geq 97\%$)



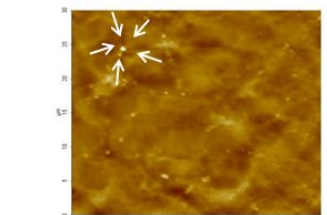
A.



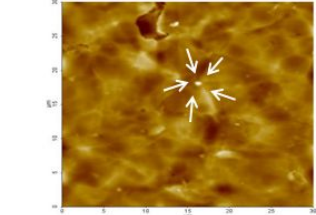
B.



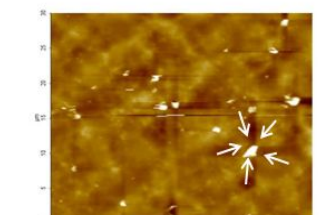
B.



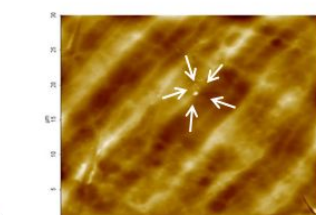
C.



C.



D.



D.

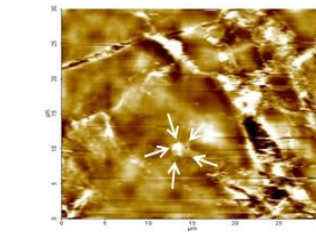
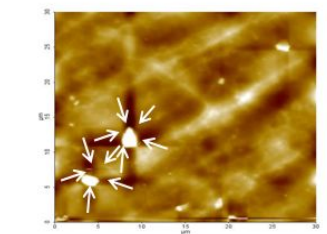
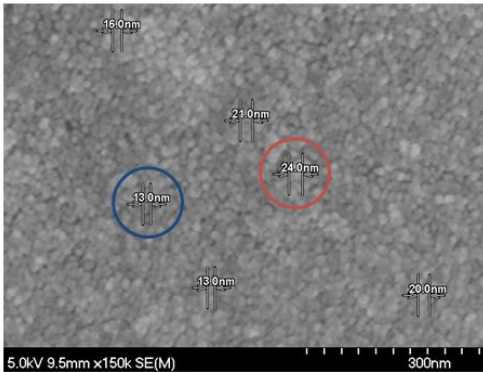


Fig. 6. AFM surface morphologies of TiO_2 films at different coating conditions.

2.2. 픽스처 표면의 미세 구조적 변화

박막 시편들의 표면 상태를 관찰하기 위해서 SEM(Hitachi Co., Tokyo, Japan, S-800)을 이용하여 티타니아 나노입자 표면처리군의 파절계면의 SEM 분석을 하였다. Fig. 7과 같이 실험 1군(Titanium butoxide(reagent grade 97%))에서는 13 ~ 24nm로 평균 18nm의 입자 사이즈가 관찰되었으며, 실험 2군(Titanium butoxide($\geq 97\%$))에서는 16 ~ 34nm로 평균 25nm의 입자 사이즈를 관찰할 수 있었다.

A. Titanium butoxide(reagent grade 97%)



B. Titanium butoxide($\geq 97\%$)

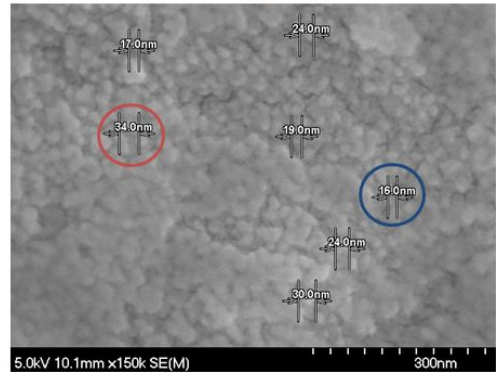
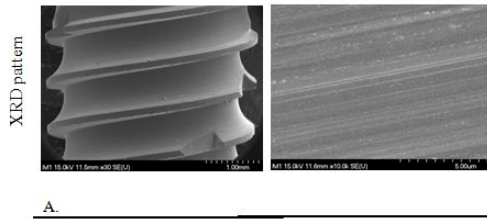


Fig. 7. SEM images of TiO_2 powders prepared using titanium butoxide(reagent grade 97%)(A), titanium butoxide($\geq 97\%$)(B) solution with different coated created by controlling anodizing potentials ranging scale bar, 300nm courtesy.

실험군과 대조군 모두 300배, 10,000배 비율로 각각 촬영하여 분석한 결과, Fig. 8에서 보이듯이 각 대조군에서는 아무런 처리가 되지 않은 상태이므로 비교적 균질하고 매끄러운 표면을 관찰할 수 있었다. 실험 1군(Titanium butoxide(reagent grade 97%))에서 1, 2회 코팅 시 티타니아 나노입자들이 치밀하게 형성된 것을 관찰할 수 있었던 반면에 3, 4회 코팅을 실시함 C, D에서는 코팅 박막이 깨져서 균질한 코팅이 이루어지지 않았음을 예측할 수 있었습니다.

이와 달리 실험 2군(Titanium butoxide($\geq 97\%$))에서는 1회 코팅된 A에서만 박막이 치밀하게 형성되었음을 확인할 수 있었습니다. 본 SEM 촬영 분석 결과, Titanium butoxide(reagent grade 97%) 사용하여 1, 2회 줄겔법에 의한 dip coating 시, 좋은 결과를 도출해낼 수 있을 것으로 사료되었다.

A. Titanium butoxide(reagent grade 97%)



B. Titanium butoxide($\geq 97\%$)

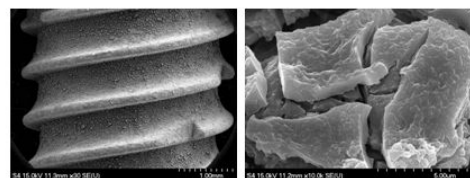
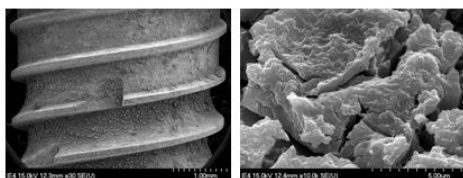
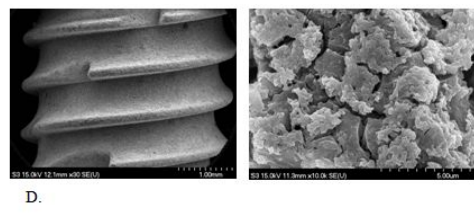
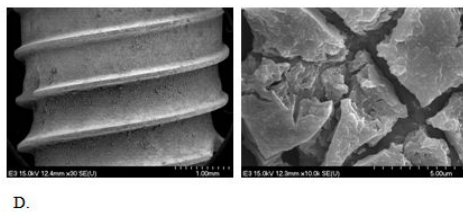
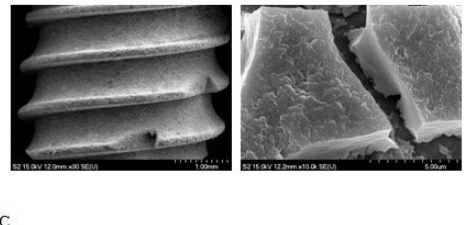
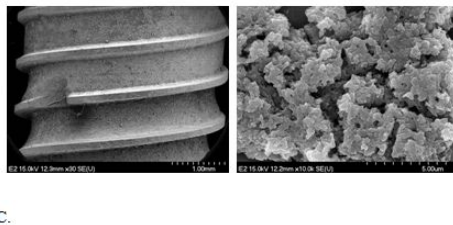
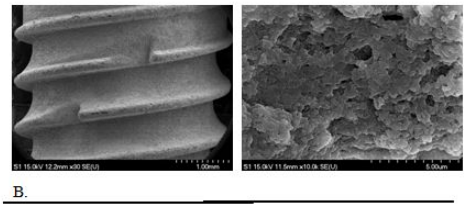
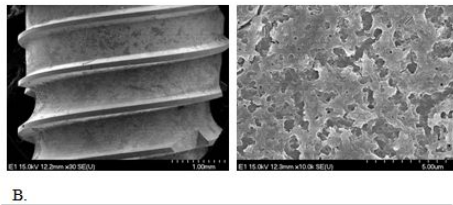
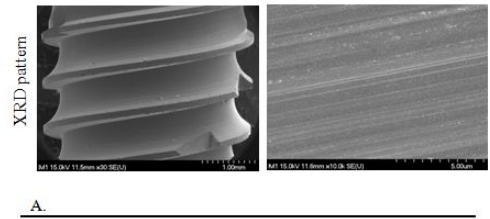


Fig. 8. SEM images of TiO_2 powders prepared using titanium butoxide(reagent grade 97%)(A), titanium butoxide($\geq 97\%$)(B) solution on dental implant fixture.

3. 티타니아 표면처리 픽스처의 *in vitro* 생체안전성 분석

졸겔법을 이용한 티타니아 나노입자로 표면처리 된 치과용 임플란트 픽스처에서의 세포 독성을 알아보기 위하여 HNOK에 픽스처 용출 용액을 4시간 동안 처리한 후, MTT assay를 수행하였다.

Fig. 9의 결과를 보면, 실험 1, 2군 모두 대조군에 비하여 세포 성장 억제능에 영향을 미치지 않았음을 확인할 수 있었다. 이 결과, Titanium butoxide($\geq 97\%$)를 사용하여 4회 이상 dip coating을 할 경우, 세포 독성이 발견가능하며, 1, 2회 수준으로 코팅을 하는 것이 보다 용이한 표면을 얻을 것으로 예상되었다.

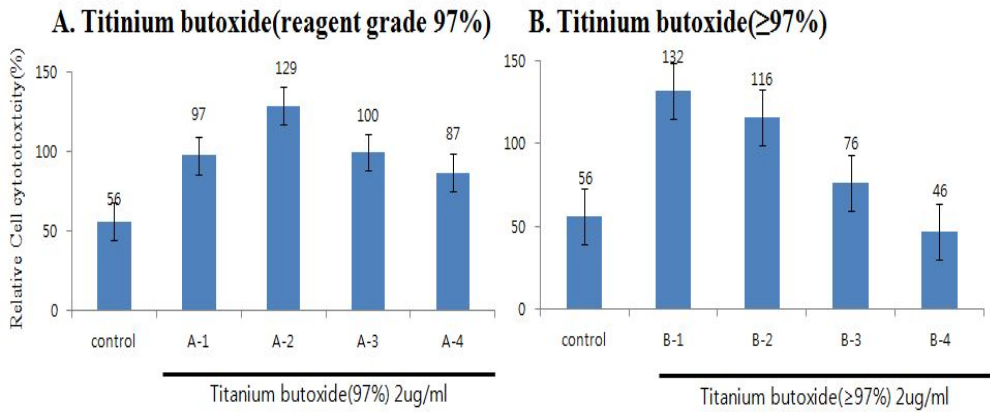


Fig. 9. Cell cytotoxicities of TiO_2 powder with dental implant fixture. Effluents of TiO_2 powder with dental implant fixture for measuring the cell cytotoxicity were prepared by following the guide lines provided by Ministry of Food and Drug Safete(MFDS), Republic of Korea. Briefly, 0.2g of bone grafting material was immersed in 1mL of sefum-free DMEM media at 37°C for 72hrs to prepare the elluent for cell cytotoxicity assay. Cell cytotoxicity of TiO_2 powder with dental implant fixture was performed by MTT assay on the human normal oral keratinocytes stimulated with its effluents for 24hrs following the guide lines provided by Ministry of Food and Durg Safety(MFDS), Republic of Korea. Cell cytotoxicities of TiO_2 powder with dental implant fixture were relatively represented by non-treated control.

IV. 고 찰

타이타늄 임플란트는 식립 후 픽스처 부분과 주변 골과의 골 유착을 통하여 성공여부를 결정한다. 성공적인 임플란트 식립을 위하여 임플란트의 표면은 골 유착에 영향을 미치는 중요한 요소이다(Brser D, *et al.*, 1991).

최근 세포가 주변의 나노단위의 미세 환경에 민감하게 반응한다는 연구결과들이 보고되면서 나노단위에 대한 세포의 형태를 살펴보고자 하는 노력들이 행해지고 있다. 조골세포의 부착 속도 및 골형성능을 증진시킬 수 있는 표면을 만들고자 여러 임플란트 표면을 나노단위로 처리하는 방법들이 연구중이며, 그 중 티타니아에 대한 연구들이 좋은 결과를 얻고 있다.

티타니아 나노튜브에 관한 세포실험에 의하며, 티타니아 나노튜브로 표면 처리하였을 때 단백질의 흡착 및 세포 부착률, 세포 운동성이 증가함을 관찰하였으며, 나노튜브의 직경을 조절하였을 때 줄기세포의 조골세포로의 분화를 유도할 수 있었으며, 나노튜브 직경에 따라 조골세포의 부착, 형상 및 골형성능이 달라졌다(Brammer KS, *et al.*, 2009 ; Oh S, *et al.*, 2005 ; Oh S, *et al.*, 2006 ; Oh S, *et al.*, 2006 ; Brammer KS, *et al.*, 2008 ; Oh S, *et al.*, 2009). 이렇게 티타니아에 대한 연구들의 하나로 본 연구에서는 경제적이고 실험 개체 수에 관여 받지 않고, 관리가 용이하며 관찰기간을 단축시킬 수 있는 점을 고려하여 시편을 이용한 실험을 하였으나 추후 동물실험과 생체내 임상시험을 통해 지속적인 연구가 필요하리라고 생각한다. 본 실험에서는 Dentis사의 치과용 임플란트 픽스처 10개 중 8개의 실험군과 2개의 대조군을 통하여 줄겔법을 사용하여 티타니아 나노 입자를 통한 표면 변화를 관찰하고자 하였다.

현재 줄겔법은 세라믹스 분말, 모놀리스(monolith), 섬유상 및 박막 제조 등을 위하여 산업계 및 학계에서 활발하게 연구되고 있는 제조 공정이다(A. Yasumori, *et al.*, 1994). 줄겔법을 본 연구에서와 같이 줄을 제조한 뒤, 실험군에 처리하였다. XRD 측정에 의해 Fig. 3에서 보이듯이 대조군에서는 35, 39, 41, 59°에서 결정 피크가 관찰됨으로써 일반적인 타이타늄 결정 피크와 동일한 모습을 보였습니다. Titanium butoxide(reagent grade 97%)를 사용한 실험 1군에서도 일반적인 타이타늄과 동일한 구간에서 피크를 보였으나 25°

부근에서 피크가 발생하였다. 이는 방향성 및 TiO_2 화되면서 발생한 미지의 화합물이 생성된 것으로 예측할 수 있었다. 두 번째 실험 2군에서는 Titanium butoxide($\geq 97\%$)를 사용한 군으로 실험 1군과 동일한 조건으로 수행하였으며, 1군과 같이 일반적인 타이타늄과 비슷한 rutile상이 분석되었으며, 피크의 끝이 날카로워지고 25° 부근에서 다시 한 번 피크가 발생하였다. 결론적으로, XRD 촬영결과를 통합적으로 분석하여 볼 때, 모든 실험군에서 Ti의 함량이 높아졌으나 미지의 화합물이 발생하였다.

그리고 Fig. 4처럼 EDS를 이용하여 코팅 표면의 원소를 비교 분석한 결과, 실험 1, 2군의 대조군에서는 O가 발생하지 않고, Ti함량이 97, 98% 정도로 매우 높게 나타났으며, Ce를 비롯한 기타 화합물이 2 ~ 3%정도 발생하였다. 하지만, 실험 1군에서는 Ti 함량이 각각 51, 51, 42, 29%로 대조군에서 비하여 O의 함량이 검출되고 기타 원소의 출현이 없었으므로 TiO_2 코팅이 이루어진 것으로 판단되었다. 실험 2군에서도 1군과 마찬가지로 Ti와 O의 함량만 검출됨으로써 모든 실험군의 원소 분석 결과, 치과용 임플란트 픽스처의 표면에 Ti와 O를 포함한 산화물로 이루어진 것으로 추측할 수 있다(Fig. 5).

AFM를 이용하여 표면 거칠기를 비교 측정하였다. 본 연구에서 제조된 박막의 경우는 Fig. 6과 같이 본 연구에서 제조된 대조군 A, B의 박막의 경우는 각 201nm, 151nm였으며, Fig. 5와 같이 실험 1군(Titanium butoxide(reagent grade 97%))은 19 ~ 50nm로 평균 32.5nm, 실험 2군(Titanium butoxide($\geq 97\%$))에서는 27 ~ 81nm로 평균 45nm였다. 모든 실험군에서 대조군에 비하여 거칠기가 좋아졌음을 알 수 있으나, 실험 1군과 2군 모두 3회 이상 dip coating시 표면의 크랙이 발생하여 거칠기가 균일하지 못했다고 판단되며 각 실험군의 1, 2회 코팅한 시편에서 거칠기가 균일했다고 볼 수 있었다.

또한, 박막 시편들의 표면 상태를 관찰하기 위해서 SEM을 이용하여 티타니아 나노입자 표면처리군의 파절계면의 SEM 분석을 하였다. Fig. 7과 같이 실험 1군에서는 13 ~ 24nm로 평균 18nm의 입자 사이즈가 관찰되었으며, 실험 2군에서는 16 ~ 34nm로 평균 25nm의 입자 사이즈를 관찰할 수 있었다. 300배, 10,000배 비율로 각각 촬영하여 분석한 결과, Fig. 8에서처럼 각 대조군에서는 아무런 처리가 되지 않은 상태이므로 비교적 균질하고 매끄러운 표면을 관찰할 수 있었다. 실험 1군에서 1, 2회 코팅 시 티타니아 나노입자들이

치밀하게 형성된 것을 관찰할 수 있었던 반면에 3, 4회 코팅을 실시한 C, D에서는 코팅 박막이 깨져서 균질한 코팅이 이루어지지 않았음을 예측할 수 있었습니다. 이와 달리 실험 2군에서는 1회 코팅된 A에서만 박막이 치밀하게 형성되었음을 확인할 수 있었습니다. 이에 따라 Titanium butoxide(reagent grade 97%) 사용하여 1, 2회 졸겔법에 의한 dip coating 시, 좋은 결과를 도출해낼 수 있을 것으로 사료되었다.

졸겔법을 이용한 티타니아 나노입자로 표면처리된 치과용 임플란트 픽스처에서의 세포 독성을 알아보기 위하여 MTT assay를 수행하였다. Fig. 9의 결과를 보면, 실험 1, 2군 모두 대조군에 비하여 세포 성장 억제 능에 영향을 미치지 않았음을 확인할 수 있었다. 이 결과, Titanium butoxide($\geq 97\%$)를 사용하여 4회 이상 dip coating을 할 경우, 세포 독성이 발견가능하며, 1, 2회 수준으로 코팅을 하는 것이 보다 용이한 표면을 얻을 것으로 추측되었다.

결론적으로, 이 연구에서는 티타니아 나노입자의 임플란트 픽스처 표면개질을 위한 소재로서의 가능성과 활용도를 높이기 위한 실험적 기초자료를 제시함을 목적으로 하였다. 그 결과 티타니아 나노입자를 처리한 픽스처는 독성이 없고 효과적인 표면의 모습을 띄었으며, 추후 임플란트 식립 후 초기 골 형성에 뛰어난 효과가 있음을 확인하였다. 본 연구를 기초로 티타니아와 나노기술을 활용하여 더 활발한 연구가 진행되어 치과용 임플란트 픽스처의 새로운 표면처리 후보물질로 개발되었으면 한다. 또한, 이 연구에서 픽스처의 표면에 코팅된 티타니아 입자의 균일도를 높이고, 흡착력을 강화하기 위해서는 졸겔법의 단점을 보완할 수 있는 기타 코팅 기법을 이용한 표면처리가 보완되어야 할 것으로 판단된다.

V. 결 론

최근 반도체 성질의 나노크기 금속산화물 또는 광촉매 반응의 활용범위가 광범위하고 반응성의 우수함이 부각되어 나노구조의 티타니아(Titania, titanium dioxide, TiO_2)를 이용한 연구가 관심을 받고 있다. 본 연구에서는 티타니아 나노 입자를 이용하여 치과용 임플란트 픽스처에 박막을 코팅하였다. 표면처리 후, XRD, EDS, AFM, SEM 및 MTT assay를 실시하였고 이를 통하여 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 시편의 정량적 분석을 한 결과, 모든 실험군에서 Ti의 함량이 높아졌으나, 25° 부근에서 미지의 화합물이 생성되었음을 확인
2. 티타니아 나노입자로 처리된 픽스처의 모든 실험군에서 Ti와 O의 함량이 검출됨으로써 모든 실험군에서 코팅이 이루어졌다고 판단됨
3. 티타니아 나노입자로 처리된 픽스처의 표면 거칠기를 분석한 결과, Titanium butoxide의 순도에 상관없이 1, 2회 코팅한 시편에서 거칠기가 균일하게 형성됨을 확인
4. Titanium butoxide(reagent grade 97%)를 이용하여 코팅 시, 비교적 균일하게 박막을 형성함을 확인
5. 세포독성 유무 분석 결과, 대조군보다 세포 생존율이 높았으며, 세포생존율에 영향을 미치지 않음을 확인

본 연구의 결과를 종합해 보면, 티타니아 나노입자는 치과용 임플란트 픽스처 표면에 처리 시 세포독성이 없고 표면 구조가 양호하여 구강 내 식립 시, 골 유착을 유도하는 데 많은 도움을 주어 추후 티타니아 나노입자를 이용한 치과용 임플란트 픽스처 표면처리로 이용될 가치가 높은 것으로 사료되었다.

VI. 참고문헌

1. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: A review and proposed criteria of success. *INT J Oral Maxillofac Implants* 1986;1:11-25)
2. Meffert RM, Langer B, Fritz ME. Dental implants: A review. *J PERIODONTOL* 1992;63:859-870)
3. Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J BIOMED MATER RES* 1991;7:889-902.
4. 송호준. 티타늄 임플란트의 골융합 증진을 위한 최신 표면처리 기술. *대한치과의사협회지* 2010;48:96-105.
5. Le Guehennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater* 2007;23:844-954.
6. 이중배. 임플란트용 티타늄 및 티타늄 합금의 표면처리. *대한치과기재학회지* 2008;35:315-328.
7. Buser D, Nydegger T, Oxland T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP, *et al.* Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 1999;45:75-83.
8. Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Sthich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 1991;25:889-902.

9. Schwartz Z, Boyan BD. Underlying mechanisms at the bone-biomaterial interface. *J Cell Biochem* 1994;56:340-347.
10. Schwartz Z, Kieswetter K, Dean DD, Boyan BD. Underlying mechanisms at the bone-surface interface during regeneration. *Journal of periodontal research* 1997;32:166-171.
11. Schwartz Z, Lhmann CH, Oefinger J, Bonewald LF, Dean DD, Boyan BD. Implants surface characteristics modulate differentiation behavior of cells in the osteoblastic lineage. *Adv Dent Res* 1999;13:38-48.
12. Yang B, Uchida M, Kim HM, Zhang X, Kokubo T. Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation titanium implants. *Biomaterials* 2004;25:1003-1010.
13. Sul YT, Johansson C, Byon E, Albrektsson T. The bone response of oxidized bioactive and non-bioactive titanium implants. *Biomaterials* 2005;26:6720-6730.
14. Sul YT, Johansson C, Wennerberg A, Cho LR, Chang BS, Albrektsson T. Optimum surface properties of oxidized implants for reinforcement of osseointegration: surface chemistry, oxide thickness, porosity, roughness, and crystal structure. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:349-359.
14. Sul YT, Kang BS, Johansson C, Um HS, Park CJ, Albrektsson T. The roles of surface chemistry and topography in the strength and rate of osseointegration of titanium implants in bone. *J Biomed Mater Res A* 2009;89:942-950.
15. A. Yasumori, K. Yamazaki, S. Shibata and M. Yamane, *J. Ceram Soc.* 1994;102:702

16. Chen CS, Mrksich M, Huang S, Whitesides GM, Ingber DE. Geometric control of cell life and death. *Science* 1997;276:1425-1428.
17. Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell* 2006;126:677-689.
18. Cavalcanti-Adam EA, Micoulet A, Blummel J, Auernheimer J, Kessler H, Spatz JP. Lateral spacing of integrin ligands influences cell spreading and focal adhesion assembly. *Eur J Cell Biol.* 2006;85:219-224.
19. Brammer KS, Oh S, Cobb C J, Björsten LM, van der Heyde H, Jin S. Improved bone-forming functionality on diameter-controlled TiO₂ nanotube surface. *Acta Biomater* 2009;5:3215-3223.
20. Oh S, Finones R, Daraio C, Chen L, Jin S. Growth of nano-scale hydroxyapatite using chemically treated titanium oxide nanotubes. *Biomaterials* 2005;26:4938-4943.
21. Oh S, Daraio C, Chen L-H, Pisanic TR, Finones RR, Jin S. Significantly accelerated osteoblast cell growth on aligned TiO₂ nanotubes. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2006;78A:97-103.
22. Oh S, Jin S. Titanium oxide nanotubes with controlled morphology for enhanced bone growth. *Materials Science and Engineering: C* 2006;26:1301-1306.
23. 이영아. 백서에서 다양한 직경의 TiO₂ 나노튜브로 표면처리된 임플란트의 골유착도 평가. 2011; 연세대학교 대학원.
24. N. Negishi, T. Iyoda, K. Hashimoto and A. Fujishima, "Preparation of Transparent TiO₂ Thin Film Photocatalyst and Its Photocatalytic Activity", *Chem. Lett.*, 1995:841.
25. 김영훈. 다공성 티타늄 임플란트의 생체활성증진을 위한 복합 표면처리에 관한 연구. 2007;세종대학교.

26. 김건우. Sol-gel법을 이용한 상온 anatase TiO_2 sol 합성. 2007;인하대학교.
27. Brammer KS, Oh S, Gallagher JO, Jin S. Enhanced cellular mobility guided by TiO_2 nanotube surface. *Nano Lett* 2008;8:786-793.
28. Oh S, Brammer KS, Li YSJ, Teng D, Engler AJ, Chien S, *et al.* Stem cell fate dictated solely by altered nanotube dimension. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009;106:2130-2135.

감사의 글

인생의 터닝포인트에서 삶을 돌아보니 제게 있어 학위과정의 길을 학문의 길 보다는 어쩌면 인격수향의 과정에 더 가깝지 않았나 싶습니다. 어느덧 대학원 2년이라는 시간이 흘러 대학원 생활을 마무리하는 지금, 그동안의 시간들을 되돌아보면 제 기억 속에 소중한 추억으로 남을 수 있는 값진 시간이었던 것 같습니다. 그동안 미흡한 저를 항상 응원해 주시고 좋은 모습으로 마무리 할 수 있도록 도와주신 분들께 진심으로 머리숙여 감사의 마음을 전합니다. 저를 도와주신 분들께 일일이 찾아 뵙고 감사드리지 못하는 점 용서 구합니다.

이 논문이 있기까지 참으로 부족한 저를 학문의 길로 불러 들여 오늘의 제가 있게 해 주신 평생의 스승인 김수관 지도 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 또한 논문심사 과정 중 많은 조언을 아끼지 않으신 김병훈 교수님, 김재성 교수님 그리고 학위과정 동안 학문의 깊이를 더할 수 있도록 많은 가르침을 주신 이숙영 교수님, 오지수 교수님께도 감사드립니다.

부족한 저의 능력을 높게 평가 해주시고 본 연구가 수행되기까지 바쁘신 와중에도 하나하나 세심한 배려를 아끼지 않으신 이종호 사장님(태창), 주욱현 이사님(BMK)께도 감사드립니다.

많은 분들의 도움이 있었기에 무사히 학위를 할 수 있었습니다. 혼자가 아닌란 걸 느끼게 해주신 많은 분들에게 감사드리며, 특히 어떤 일을 하든지 묵묵히 지켜봐 주시며 언제나 큰 힘이 되어준 제 평생의 후원자인 저희 가족들에게도 감사의 마음을 전하고자 합니다.

항상 미안한 마음이 앞서고, 부족한 저를 많이 도와주었던 오다혜, 박미라, 임민지 등 연구실 식구들에게도 진심으로 감사드립니다.

앞으로 사회에 나가서 귀감이 될 수 있는 위풍당당한 모습을 보여드릴 것을 약속드립니다. 그리고 모든 분들이 행복하고 좋은 일만 있기를 하나님께 기도드립니다.

2013년 12월 김 경 수