



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](#)

2019년 2월

박사학위논문

가토에서 다공성
Nickel-Titanium Alloy
Implant의 골 및 조직 반응

조 선 대 학 교 대 학 원

치 의 학 과

민 귀 현

가토에서 다공성
Nickel-Titanium Alloy
Implant의 골 및 조직 반응

Bone and tissue reaction of porous
Nickel-Titanium alloy implant in rabbits

2019년 2월 25일

조 선 대 학 교 대 학 원

치 의 학 과

민 귀 현

가토에서 다공성
Nickel-Titanium Alloy
Implant의 골 및 조직 반응

지도교수 김 병 옥

이 논문을 치의학 박사학위신청 논문으로 제출함

2018년 10월

조 선 대 학 교 대 학 원

치 의 학 과

민 귀 현

민귀현의 박사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 임 성 철



위 원 전남대학교 교수 김 옥 수



위 원 조선대학교 교수 이 경 제



위 원 조선대학교 교수 유 상 준



위 원 조선대학교 교수 김 병 옥



2018년 12월

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT

I. 서 론	1
II. 실험 재료 및 방법	2
1. 실험 재료	2
2. 실험 방법	2
3. Histomorphometric analysis	4
4. 통계처리	5
III. 연구 결과	6
1. 4주군	6
2. 8주군	8
IV. 총괄 및 고찰	11
참고문헌	15

도 목 차

Figure 1. The experimental disc of Porous Ni-Ti alloy	3
Figure 2. Experimental procedure	4
Figure 3. Sacrifice experimental procedure(4 weeks)	5
Figure 4. Histogram illustrating of the percentage of new bone and connective tissue in 4 weeks groups	7
Figure 5. Histomorphometric analysis of 4 weeks groups	8
Figure 6. Histogram illustrating of the percentage of new bone and connective tissue in 8 weeks groups	10
Figure 7. Histomorphometric analysis of 8 weeks groups	10

표 목 차

Table 1. Tissue response in 4 weeks control and experimental groups	7
Table 2. Percentage of new bone and connective tissue in 4 weeks groups	7
Table 3. Tissue response in 8 weeks control and experimental groups	9
Table 4. Percentage of new bone and connective tissue in 8 weeks groups	9

ABSTRACT

Bone and tissue reaction of porous Nickel-Titanium alloy implant for dental implant in rabbits

Min Gwi-Hyeon

Advisor: Prof. Kim Byung-Ock, D.D.S., Ph.D.

Department of Dentistry

Graduate School of Chosun University

Introduction

Porous Nickel-Titanium(Ni-Ti) alloy implants were previously introduced and a number of studies were performed. Porous nickel-titanium alloys have excellent properties such as excellent biocompatibility, high osseointegration rate, superelastic and shape memory properties, which are valuable in the dental field. It may be considered to use a porous Ni-Ti coating to combine the advantages of Ni-Ti with titanium implants.

The aim of this study was to investigate the tissue response of porous Ni-Ti alloy *in vivo*. It is important to verify biological stability by evaluating new bone formation and surrounding tissue reactions of porous Ni-Ti alloys to be used as coatings. In the experiment, a disc-shaped porous Ni-Ti alloy was applied to the skull of rabbit, and new bone formation and inflammation reaction were observed.

Materials and Methods

Three calvaria bone defects were formed on the adult male New Zealand Rabbits weighting 3~3.5kg. The calvaria defect was formed in 8 mm diameter. The specimens were fabricated in the form of a porous Ni-Ti alloy disc with a diameter of 8 mm and a thickness of 1 mm. There were one control group and two experimental groups.

In the control group, only the collagen membrane was applied to the defect. In the experimental group I, the disc was applied to the defect with bone graft and

resorbable membrane. In the experimental group II, the disc was placed in the defect covered by resorbable membrane. After 4 and 8 weeks of healing, the experimental animals were euthanized for specimen preparation. Histomorphometric analysis was performed to quantify new bone formation and connective tissue. The data were analyzed by Kruskal - Wallis test and Mann-Whitney test.

Results

At 4 and 8 weeks, new bone formation was seen in all groups. However, it was not statistically significant. In the experimental group, the amount of new bone was smaller than that in the control group, and more new bone formation was seen in the bone grafted group. The new bone formation was not enough compared to the study of titanium implants. There was slight inflammation in the experimental groups compared to the control group.

Conclusion

In this study, new bone formation and tissue reactions were seen around the porous Ni-Ti alloy. There was slight inflammation and insufficient new bone formation in the experimental groups. This means that there was an effect of porous Ni-Ti alloy on adjacent tissue. More researches on porous Ni-Ti alloy surfaces is likely to be needed. In future studies, porous Ni-Ti alloys may be proposed as an effective coating material when better bone formation and tissue response will be seen.

I. 서 론

치과용 임플란트는 상실된 저작기능과 심미적 회복을 원하는 환자들의 요구에 부합하는 치아의 대체체로서 치과 영역에서 큰 역할을 수행하고 있다. 치과용 임플란트는 재료와 기술적인 부분에서 짧은 기간 많은 발전을 이루었다. 현재는 티타늄 계열의 치과용 임플란트가 주를 이루고 있는데, 2000년 초, 중반에는 Ni-Ti합금을 이용한 임플란트에 대한 연구가 많이 이루어졌다.

Ni-Ti합금은 1959년 Buehler, Gilfrich와 Wiley, Wang, Buehler와 Pickart [1,2]에 의해 발견된 물질로서 형상기억과 초탄성의 특별한 특성을 가지고 있다. 의료 분야에서는 이러한 성질을 이용한 의료 용품이 제조되어 다양하게 활용하고 있다. 다공성을 가진 Ni-Ti합금은 골과 융합이 필요한 분야에서 이용되고 있는데, 최초로 상용화된 다공성 Ni-Ti합금으로 제조된 의료용품은 2002년 정형외과에서 요추와 경추를 치료하기 위해 만들어진 척추 대체체였다.[3] 임상적으로 다공성의 Ni-Ti합금은 Ni-Ti합금 자체 고유의 특성을 가지면서 생체 친화성과 우수한 골융합을 확인할 수 있었다. 이를 기반으로 치과영역에서도 치과용 임플란트에 다공성의 Ni-Ti합금을 적용하려는 연구가 진행이 되었다.[4] 골유착에 유리한 다공성의 구조를 가진 임플란트를 오스테나이트(austenite)상에서 휘어지고, 마텐자이트(martensite)상에서 곧은 형태를 갖도록 제작되었다. 이는 Ni-Ti의 형상 기억의 특성을 이용하여 골 내에 식립된 임플란트가 온도가 높아짐에 따라 오스테나이트상으로 변이되면서 휘어져 기계적인 고정이 잘되도록 한 것이었다. 하지만 형태가 일정하지 않아 표준화된 방식으로 식립이 어려웠고 임플란트에 문제가 생겼을 때 제거하기 어려워 직선형 임플란트에 비해 착탈(retrievability) 정도가 어려웠다. 그리고 니켈 이온(Ni^{+})의 용출 가능성 등의 문제도 제기되어 생체 안정성에 대한 논란도 이어졌다. 이로 인해 임상적용이 어려웠고 현재는 다공성의 Ni-Ti합금으로 제조되는 치과용 임플란트에 대한 연구는 많이 이뤄지지 않고 있다. 하지만 Ni-Ti합금이 가지고 있는 생체친화성, 우수한 골융합, 형상기억, 초탄성 같은 특성은 치과용 임플란트에 있어 분명히 가치있는 성질들이다. Ni-Ti합금의 생체친화적인 특성은 니켈 이온의 용출이 없는 가정 하에서 가능한데, 표면처리가 충분히 이루어진다면 다공성의 Ni-Ti합금은 생체친화적인 재료이다. 다공성의 구조는 골조직의 침투가 용이하고 훌륭한 골유착을 형성할 수 있는 환경을 제공해 준다. 그리고 부가적으로 형상기

역의 특성은 기계적인 적합성을 높여줄 수 있고, 초탄성은 외력에 대해 버틸 수 있는 영역을 넓혀주고 stress shielding effect를 감소시킬 수 있어 안정적인 골유착을 유지시키고 파절을 방지할 수 있는 구조적인 안정성을 준다.

다공성 Ni-Ti합금으로 이전에 실패를 경험한 임플란트 형태를 제조하는 것이 아닌 다공성 Ni-Ti 합금의 장점을 취할 수 있는 방법을 생각해 보면, 안정성을 인정받은 티타늄 임플란트에 다공성 Ni-Ti합금을 적용해 보는 것이라 생각된다. 임상적으로 안정적인 시스템을 개선하는 방향으로 적용한다면 더 용이하게 재료간의 결합을 이룰 수 있을 것이라 생각된다.

지금까지 티타늄 임플란트의 발전은 골유착을 향상시키기 위한 형태와 표면처리의 변화를 통해 이루어져 왔다. Sandblast Large grit Acid etch, Titanium plasma spray같이 티타늄 표면에 거친 표면을 부여한 후 화학적으로 hydroxyapatite, Mg, Sr, F, Ca-P등을 코팅하여 골유착에 유리한 환경을 만들어 주는 형태로 이루어졌던 부분으로 [5], 다공성 Ni-Ti합금의 우수한 다공성의 구조를 티타늄 임플란트의 표면에 적용하는 방식을 적용할 수 있다면 골유착에 우수한 환경을 제공할 수 있을 것이다. 그리고 부가적인 Ni-Ti합금의 특성을 전달할 수 있을 것이라 생각된다.

이번 연구는 *in vivo*상에서 다공성의 Ni-Ti합금의 조직 반응을 살펴보는데 목적이 있다. 향후 코팅제로 활용할 다공성의 Ni-Ti합금의 골형성 및 주변 조직의 반응을 평가하여 생물학적 안정성을 확인하는 것이 중요하다고 생각된다. 실험에서는 가토의 두 개골에는 원판 형태의 다공성 Ni-Ti합금을 제작해 적용했고 주변의 신생골 생성 및 염증 반응을 살펴보았다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 연구는 조선대학교 동물윤리위원회의 승인(CIACUC2017 A0010) 받아 진행되었다. 실험은 1년생 3~3.5kg 6마리 수컷 토끼(New Zealand Rabbit)를 이용하여 각 3마리씩 4, 8주군으로 나눠 진행했다.

실험에 사용된 시편은 다공성 Ni-Ti합금(Human Cross, Korea) 원판으로 직경 8 mm, 두께 1mm로 제작되었다.(Figure 1)

원판의 다공성 구조는 SHS (Self-propagating High temperature Synthesis)방식으로 형성하였다. 표면처리를 위해 1차 산세척, 2차 10분간 식염수세척, 3차 100°C 30분간 증탕 가열하였다. 만들어진 시편은 25~40 kGy의 감마선을 이용해서 살균하였다.

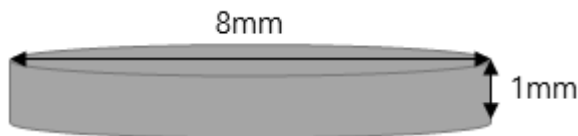


Figure 1. The experimental disc of Porous Ni-Ti alloy.

2. 실험 방법

토끼를 Ketamine-HCl(5mg/kg)과 Xylazine HCl(1.5ml/kg)으로 마취시킨 후, 두개부 위의 털을 깎고 소독 후, 골막을 포함한 전측판막으로 거상하였다. 8 mm trephine bur (3i, USA)를 이용하여 두개골에 뇌막까지 접근되도록 관통된 3개의 골결손부를 형성하였다.(Figure. 2). 형성된 골결손부에는 각각 대조군과 2개의 실험군을 설정하였다. 대조군은 다공성 Ni-Ti합금 원판 없이 골결손부를 흡수성 차폐막(CollaGuide®, 아이비덴탈, Korea)으로만 피개하였다. 실험군 I은 다공성 Ni-Ti합금 원판을 골결손부에 적용하고 이중골(intergraft®, 세라메드, Korea)을 상방에 약 1 mm 높이로 적용하고 흡수성 차폐막(CollaGuide®, 아이비덴탈, Korea)으로 덮어주었다. 실험군 II는 다공성 Ni-Ti합

금 원판을 적용하고 골이식재 없이 흡수성 차폐막(CollaGuide®, 아이비덴탈, Korea)만으로 피개하였다. 각각의 재료를 적용 후에 흡수성 봉합사(vicryl 5/0, Ethicon Inc., Germany)를 이용해서 고정될 수 있도록 골막에 수평 누상 봉합을 시행하였다.

창상은 흡수성 봉합사(vicryl5/0, Ethicon Inc., Germany)로 단속봉합 시행하였다. 술 후 2일 동안 gentamicin (0.1mg/kg)을 피하 주사하였다.

수술 4주, 8주 후에 토끼의 정맥 내에 KCl (1mg/kg)을 주사하여 희생시켰다. 토끼의 두개골을 전층판막으로 거상한 후 reciprocal saw를 사용하여 이식부위를 침해하지 않고 조심스럽게 두개골을 제거하였다.

3. Histomorphometric analysis

제거된 두개골 절편을 4% paraformaldehyde용액에 고정하였으며, 탈회용액(hydrochloric acid, Fisher Scientific, Tustin, CA)에서 2-4주 동안 4°C에서 탈회한 후 통법에 따라 탈수하고 파라핀에 포매하였다. 포매된 절편을 6 µm 두께로 박절하고 Hematoxylin-Eosin염색을 시행했다. 준비된 시편은 광학 현미경을 통해 관찰하였고, 조직상은 MagnaFire digital camera system (Optronics®,Goleta,CA,USA)으로 얻었다. 얻은 조직상에서 Visus Image Analysis System (Image&Microscope Technology, Daejeon, Korea)을 이용해서 신생골, 결합조직량을 계측하고, 조직 염증의 유, 무를 평가하였다.

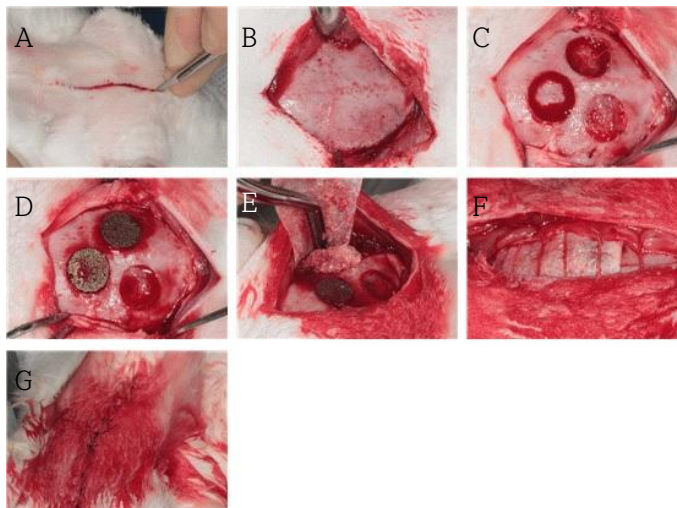


Figure 2. Experimental procedure.

A: Incision on the rabbit's head **B:** elevation of full thickness flap **C:** three bone defects on the rabbit's calvaria **D:** ① control group, ② experimental group I, ③ experimental group II. **E:** applying experimental materials to the bone defect.(control group: resorbable membrane, experimental group I : porous Ni-Ti disc + xenograft + resorbable membrane, experimental group II : porous Ni-Ti disc + resorbable membrane). **F:** fixation of collagen membrane with holding suture with absorbable suture material **G:** flap closure with non-absorbable suture material.

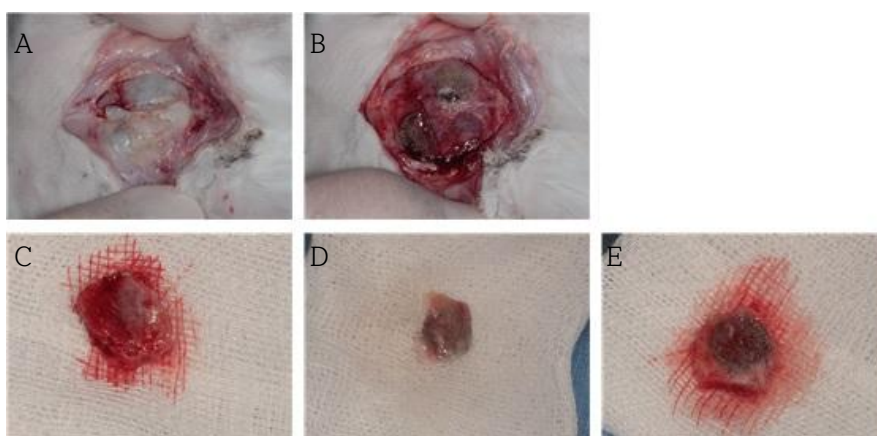


Figure 3. Sacrifice experimental procedure.(4 weeks)

A. After 4 weeks, rabbit was sacrificed and surgical site was opened. collagen membrane was retained well. **B.** after removal of collagen membran, surgical site was seen healthy tissue status with applying materials. **C:** control group specimen **D:** experimental I group specimen **E:** experimental II group specimen

4. 통계처리

대조군과 실험군의 반복 실험을 걸쳐 평균을 표시하였다. 자료의 통계 분석은 SPSS 20.0 software (SPSS, Chicago, USA)를 사용하였다. 각 군마다의 유의적 차이를 확인하기 위해서 Kruskal- wallis와 Mann-Whitney test을 이용하였고, 유의수준 $p < 0.05$, 신뢰수준 95%에서 검증하였다.

III. 연구 결과

1. 4주군

1) 대조군

전체적으로 신생골의 비율이 높았다. 조직계측학적 분석을 통해 신생골은 41.3%, 결체조직은 58.70%의 비율을 확인하였다. 염증 반응은 3마리 중 2마리에서는 음성으로 나타났고, 1마리에서 양성을 나타내었다.

2) 실험군 I

적용했던 흡수성 차폐막은 약간 흡수된 상태로 원형 상태를 유지하고 있었다. 다공성 Ni-Ti합금 원판 상부에 적용했던 골이식재 주변으로 골형성이 원활히 이루어진 것으로 보였고, 표면 경도는 단단한 상태였다.(Figure 3D) 조직계측학적 분석을 통해 신생골은 33.17%, 결체조직은 6.83%였다. 신생골의 비율은 대조군에 비해 적었고, 신생골에 비해 결체조직의 양이 많았다. 염증은 3마리 모두에서 양성을 나타내었다.

3) 실험군 II

조직계측학적 분석시 신생골 9.93%, 결체조직 90.07%를 나타내었다. 신생골의 형성이 다른 군에 비해서 저조했다. 실험군 I의 30%정도의 신생골 형성이 이루어진 상태였다. 조직편을 육안으로 봤을 때 원판 상부가 결합조직에 쌓인 채로 노출되어 있었고, 가장자리 부위에서만 골형성 양상 관찰되었다.(Figure 3E) 염증은 3마리 모두에서 양성으로 나타났다.

Table 1. Tissue response in 4 weeks control and experimental groups (n=3)

No. of rabbit	Inflammation		
	1	2	3
Control group	–	–	+
Experimental group I	+	+	+
Experimental group II	+	+	+

Table 2. Percentage of new bone and connective tissue in 4 weeks groups.

Data are shown as mean

	NB	CT
Control group	41.30	58.70
Experimental group I	33.17	66.83
Experimental group II	9.93	90.07

NB: new bone, RG : residual bone graft, CT: connective tissue

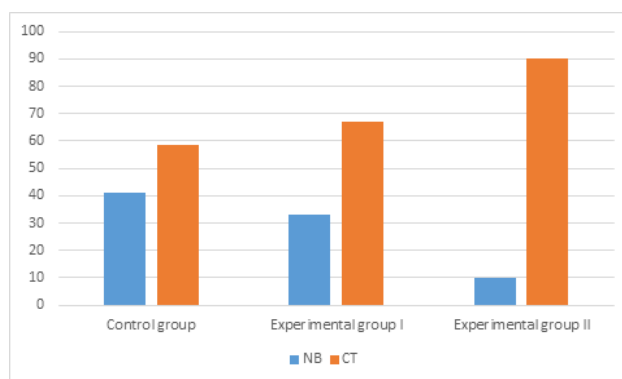


Figure 4. Histogram illustrating of the percentage of new bone and connective tissue at 4 weeks. The highest new bone volume was the control group compared to the experimental groups. Between experimental groups, experimental group I was about three times as large as new bone compared to the experimental group II.

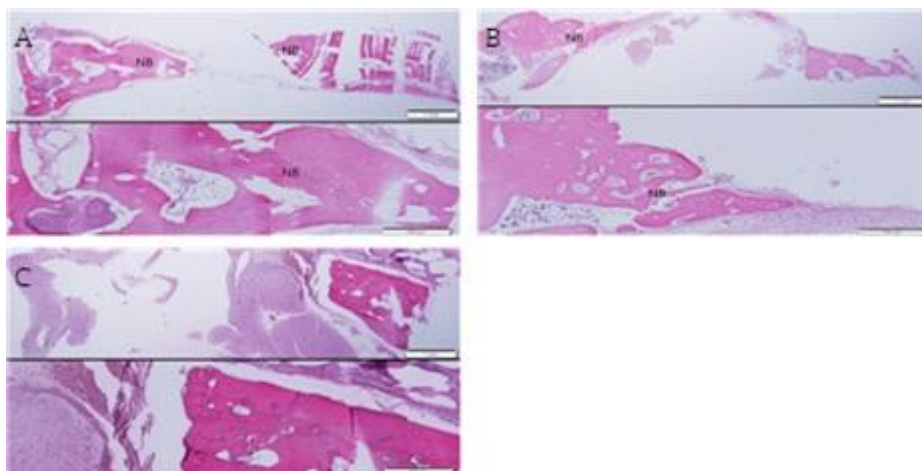


Figure 5. Histomorphometric analysis of 4 weeks groups (upper: 1mm, lower: 500 μ m)
 A. control group: the central defect had no new bone formation. New bone was seen in margin area. B. experimental group I: Thin new bone was seen in bone central defect site continuously. C. experimental group II: New bone and connective tissue were seen in the marginal area.

2. 8주군

1) 대조군

조직계측학적 분석을 통해 신생골은 19.6%, 결체조직은 80.4%의 비율을 확인하였다. 신생골의 비율은 4주군에 비해서 약 50% 감소했다. 염증 반응은 3마리 모두 음성으로 나타났다.

2) 실험군 I

조직계측학적 분석을 통해 신생골은 40.77%, 결체조직은 59.23%였다. 신생골의 비율은 4주군에 증가했다. 염증은 3마리 모두에서 양성을 나타내었다.

3) 실험군 II

조직계측학적 분석시 신생골 6.27%, 결체조직 93.73%를 나타내었다. 신생골의 형성이 다른 군에 적었고, 4주군에 비해 약 30% 감소했다. 조직의 대부분은 결체조직이었다. 염증은 3마리 중 2마리에서 음성으로 나타났고, 1마리에서 양성을 보였다.

Table 3. Tissue response in 8 weeks control and experimental groups (n=3)

No. of rabbit	Inflammation		
	1	2	3
Control group	-	-	-
Experimental group I	+	+	+
Experimental group II	-	+	+

Table 4. Percentage of new bone, residual bone graft and connective tissue at 8 weeks. Data are shown as means

	NB	CT
Control group	19.60	80.40
Experimental group I	40.77	59.23
Experimental group II	6.27	93.73

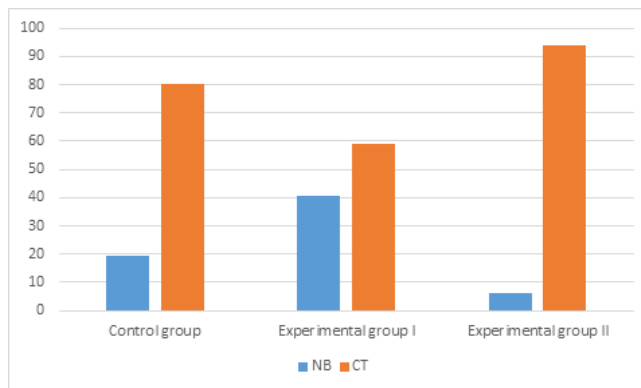


Figure 6. Histogram illustrating of the percentage of new bone and connective tissue at 8 weeks. The highest new bone volume was the experimental group I compared to other groups. Between experimental groups, the difference of new bone volume was greater than 4 weeks.

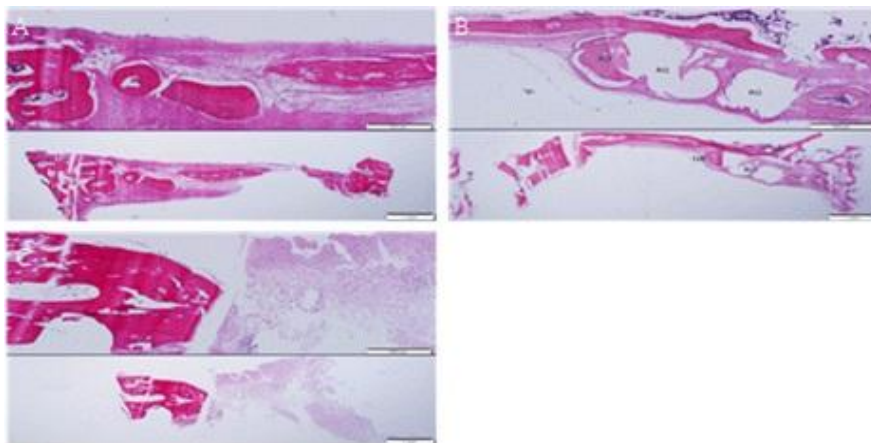


Figure 7. Histomorphometric analysis of 8 weeks groups (upper: 1mm, lower: 500μm)
A. control group: The defect was covered by new bone from the margin. B. experimental group I: new bone and graft bone were seen continuously in the entire defect. Thick new bone covered the central bone defect C. experimental group II: New bone was developed from the margin. Central defect was filled with connective tissue.

4, 8주군 모두 신생골, 결합조직 비율에서 통계학적 유의한 차이는 없었다. 4주, 8주군 간을 비교시에도 신생골, 결합조직 비율 모두에서 통계학적으로 유의한 차이는 없었다.

IV. 총괄 및 고찰

이번 논문의 목적은 다공성 Ni-Ti합금의 *in vivo*상에서 골형성 여부 및 염증반응을 평가하여 조직 반응의 정도를 살펴보는 것이었다. 술 후 4주와 8주에 조직학적 평가에서 신생골의 비율은 실험군 I은 각각 33.17%, 40.77%, 실험군 II는 9.93%, 6.27%으로 나타났다. 실험군 I과 실험군 II의 차이는 골이식재에 적용 여부에 따른 것으로 실험군 II의 경우는 골이식재를 상부에 적용하지 않아 골재생이 일어날 공간 확보가 되지 못해 신생골 비율이 낮게 나온 것으로 생각된다. 조직 반응은 실험군 모두에서 약간의 염증이 관찰되었다. 대조군은 4주군에서 1개체에서만 양성을 나타냈다. 하지만 실험군 I에서는 4, 8주군 모두에서 양성을 나타냈고, 실험군 II는 4주군 모두 양성을 보였고, 8주군은 1개체만 음성을 보였다. 염증반응은 염증의 유무를 확인한 것으로 대조군에 비해 실험군에서 염증이 나타난 것을 볼 수 있었다. 이는 다공성 Ni-Ti합금에 의한 영향이라 생각된다. 다공성 Ni-Ti합금에 의해 치유가 대조군에 비해 더디게 진행된 것으로 생각된다. 하지만 치유가 진행되면서 염증 상태가 개선된 것을 볼 수 있고, 염증의 심도에 있어서는 골재생에 영향을 줄 정도의 상태는 아니었기에 양호하다고 볼 수 있다.

다공성 Ni-Ti합금은 니켈과 티타늄이 1:1의 비율로 혼합된 물질로 SHS (self-propagating high temperature synthesis)방식으로 제조되었다.[6] SHS방식은 니켈이온과 티타늄이온 사이의 발열반응이 연쇄적으로 진행되면서 발생하는 내부 폭발을 이용해서 다공성의 구조를 만드는 방법이다. 다공성과 평균적인 공간의 크기는 압력과 온도를 이용해서 일정부분 조절할 수 있다. 압력을 감소시킨 상태에서 공간 조절 물질(NH_4HCO_3 , Mg, NaCl, NaF)을 추가하면 다공성을 증가시킬 수 있고[7,8], 반응 온도를 변화 시키면 공간의 크기를 조절할 수 있다. 이후 온도를 일정하게 유지시키면 균일 다공성 상태로 만들 수 있다. SHS방식을 통해 다공성은 50%정도 형성된다. SHS방식의 장점은 적은 에너지 사용, 상대적으로 단순한 과정, 높은 다공성, 저렴한 가격이다. 하지만 온도 및 압력 조절이 잘못될 경우, 너무 많은 다공구조와 큰 공간 크기를 형성시킬 수 있다. 그리고 짧은 시간과 높은 가열 비율 때문에 완전히 반응 못한 잔여 물질이 남아 2차상이 나올 수 있다.[9] 이는 SHS과정 속에서 금속간 상(intermetallic phases)을 조절하는 것이 불가능해서 발생하는 것으로 Ti_2Ni , Ni_3Ti , Ni_4Ti_3 와 같은 2차 중간산물이 형성된다. 이러한 물질이 많을 경우 취성파괴 현상이 발생할 수 있기 때문에 적절한 온도와 시간동안 반응이 일어나도록 해야 한다.[10]

이렇게 형성된 다공성의 구조는 골조직에 생체 적합성이 높은 환경을 만들어 주게 된다. 다공성 Ni-Ti합금은 평균적으로 30-80%다공성과 100-600um의 공간 크기를 갖게 된다.[3] 이는 해면골과 유사한 형태로 높은 표면적을 제공해준다. 주변의 조직액의 투과와 골조직의 침투는 일반적인 경우보다 2배 이상의 높은 속도로 일어나고 빠른 골유착을 만들어준다.[11, 12] 동물실험에서 이러한 다공성 구조에서 좋은 BIC(bone implant contact)와 많은 양의 골침투가 일어나는 것을 확인했다.[13, 14] 47-66%의 다공성과 260-510um의 공간 크기에서 높은 BIC를 보여준다는 연구도 있다.[15] 일반적으로 75-85%의 다공성과 100um보다 공간 크기에서 빠른 골조직의 침투가 일어난다고 여겨진다.[16]

또한 다공성 구조는 빈 공간을 통해 낮은 밀도와 낮은 강성(stiffness)를 갖게 만들고, 탄성계수도 감소시킨다. 오스테나이트 다공성 Ni-Ti합금의 탄성계수는 55-80 GPa로 티타늄 100 GPa, 스테인리스 스틸 190 GPa, 코발트 기반의 합금 210 GPa의 수치에 비해 자연골의 탄성계수(해면골: 3GPa이하, 피질골: 12-17GPa)에 가깝다.[17] 다른 금속에 비해 작은 탄성계수는 인접 골조직과의 응력 차이가 감소시켜 stress shielding effect를 줄여준다.[18] Stress shielding effect는 골조직과 임플란트 사이의 탄성계수의 큰 차이로 인해 발생하는 응력 효과로서 주변 경조직의 흡수와 임플란트의 실패를 야기할 수 있다.[19, 20] 다공성 Ni-Ti합금을 이용해서 임플란트 주변에 적용할 수 있다면 골침투에 유리한 환경을 만들면서 인접 조직과의 탄성 계수를 감소시켜 골재생의 생리적인 측면과 기계적인 부분에서 기존보다 개선된 특성이 나타날 수 있을 것이라 생각된다.

하지만 Ni-Ti합금 내의 니켈 이온은 이온 상태로 신체 내 노출될 경우 천식, 알러지, 세포 과민반응, 세포독성, 유전자 독성과 같은 심각한 부작용이 발생할 수 있다.[21]

다공성 구조에 의해 인접 조직에 접하는 면적이 넓고, 주위 조직액에 노출되어 있는 환경은 화학적 작용에 의한 부식을 발생시켜 니켈이온을 유출 시킬 수 있다. 실험 연구에서 공간 크기가 커짐에 따라 부식저항성이 2-3배 감소한 결과를 보여주었다.[22]

또한 임플란트는 지속적인 부하를 받게 되는데, 부하에 의한 니켈 유출을 살펴본 Duyck et al에 의하면 니켈유출량과 부하의 연관성은 없다고 했다.[23] 의료용으로 사용되는 재료에 있어 가장 중요한 요소는 생체 안전성이기 때문에 니켈의 유출에 대한 안정성 확보 및 이에 대한 좀 더 객관적이고 다양한 평가는 필수적이다.

니켈이온 유출 문제 해결은 표면 처리를 통해 이루어지고 있다. Ni-Ti합금은 초기 제조 공정상에서 매우 얇은 산화막(oxide layer)이 형성되어 부식과 산화를 예방해준다.

하지만 이 층은 결손을 가지거나 사용 중에 금이 가서 막의 보호 능력을 상실할 수 있다. 니켈의 유출은 이러한 결손부위를 통해 일어나게 된다. 그래서 Ni-Ti합금 표면에 안정성 있는 막의 두께를 형성하기 위해 추가적인 표면처리가 진행되어야 한다.[24] 그래서 thermal annealing, oxygen plasma immersion ion implantation, pre soaking In SBF solution, TiN, TiO₂-PVD coating, HA coating과 같은 다양한 방법이 적용되고 있다.[25-27] 이러한 표면 처리를 통해 니켈보다 좀 더 산화성이 큰 티타늄의 산화를 통해 균일하고 동질의 두꺼운 TiN, TiO₂층을 형성해 줘 니켈이온이 유출되는 것을 최소화되도록 한다. 산화막의 두께가 니켈이온 유출을 방지하는데 가장 중요한 부분이다.[28] 이렇게 표면처리를 시행할 경우, 농출되는 니켈이온의 농도는 매일 평균적으로 섭취하는 니켈 농도(150~900ug per day)의 1/3-1/24 이하 수준으로 내려간다. 그리고 부식에 높은 저항성을 갖게 된다.[29, 30] Gu는 니켈과 섬유모세포의 영향 정도를 평가했는데, 표면 처리되지 않은 다공성 Ni-Ti합금 표면에는 어떠한 세포 부착도 일어나지 않은 반면 표면처리를 시행한 경우 세포의 부착과 증식이 일어나는 것을 보고했다.[31] Shabalovskaya 등은 표면 처리된 다공성 Ni-Ti합금은 *in vitro*상에서 생체적합한 특성을 갖는다고 발표했다.[32, 33] 표면처리가 잘 될 경우, 다공성 Ni-Ti합금은 인체 내에서 불활성의 상태로 우수한 생물학적 안정성을 가진다고 볼 수 있다.

다공성의 Ni-Ti합금은 이번 연구에서 골재생이 이루어졌고, 양호한 조직 반응을 나타냈다. 이러한 생체 반응을 통해 Ni-Ti합금 제조시 표면처리가 이뤄졌다고 생각된다. 하지만 골재생 여부만 확인할 수 있는 것으로 다공성 Ni-Ti합금에서의 원활한 골재생의 양상을 파악하지는 못했다. 그리고 신생골의 형성은 확인했지만, 티타늄에서의 골재생 양상과 비교해보면 상당히 적은 양이 생성된 것을 확인 할 수 있다. 티타늄에서는 신생골의 비율은 4, 8주 모두에서 70% 이상의 비율을 보였다.[34-36] 하지만 이번 실험에서는 상대적으로 적은 40% 이하의 신생골 비율을 나타냈다. 이는 조직에서 보인 염증 반응의 차이에서 나타난다고 생각된다. 염증의 원인은 실험과정상의 문제도 있겠지만, 주로 조직편의 차이에서 기인한다고 생각된다. 염증 반응과 신생골 비율을 볼 때 다공성 Ni-Ti합금의 주위 조직에 대한 일정량의 부정적인 영향이 있는 것으로 보인다. Ni-Ti합금의 표면처리 정도를 정확히 확인할 수 없었지만 염증 상태로 볼 때 티타늄에서 형성된 산화막과 비교해서 산화막의 정도가 부족하지 않았을까 추측해 본다. 향후 제조된 다공성 Ni-Ti합금의 표면에 대한 평가가 필요할 것이라 생각된다.

이번 연구는 다공성 Ni-Ti합금의 조직 반응과 골형성을 살펴보는 것으로 기대했던 부분에 대해 확인할 수 있었다. 골형성 여부와 염증을 통한 조직 반응을 통해 실험에

적용되었던 다공성 Ni-Ti합금의 생물학적 반응을 평가할 수 있었다. 하지만 개체수가 많지 않아 군 간의 통계적인 차이를 찾기에는 어려움이 있었다. 부족한 신생골 형성과 양성의 염증 반응을 통해 향후 Ni-Ti시편 표면에 대한 면밀한 평가가 이루어져야 할 것으로 보인다.

다공성 Ni-Ti합금은 적절한 표면처리만 이루어진다면 생체안정성이 적합하고 다공성의 구조를 쉽게 형성시킬 수 있어 골형성 및 골유착에 유리한 환경을 만들어 줄 수 있다. 그리고 골조직에 가까운 기계적인 특성을 통해 임플란트의 장기적 안정성(longevity)에도 기여할 수 있을 것이라 생각된다. 하지만 이번 연구 결과를 보면 재료 표면에 대한 추가적인 연구를 통해 안정성을 검증하는 것이 필요하다고 생각된다. 더 나아가 다공성 Ni-Ti를 임플란트 주위에 코팅한 상태로 실험을 하여 주위 골조직 사이의 계면에서의 기계적인 안정성 여부도 평가가 이루어져야 할 것으로 보인다. 다공성 NiTi의 안정성과 효과적인 골재생 양상이 확인된다면 충분히 효과적인 코팅 재료로서 역할을 수행할 가능성이 있다고 생각된다.

참고문헌

1. Buehler WJ, Gilfrich JV, Wiley RC. Effect of low-temperature phase changes on mechanical properties of alloys near composition TiNi. J Appl Phys. 1963;34:1475.
2. Wang, FE, Buehler, WJ, Pickart, SJ. Crystal Structure and a Unique Martensitic Transition of TiN. J Appl Phys. 1965;36(10):3232 - 3239.
3. Bansiddhi A, Sargeant TD, Stupp SI, Dunand DC. Porous NiTi for bone implants: A review. Acta Biomater. 2008;4(4):773-782.
4. Afonina VS, Borisenko NI, Gizatullin RM, Gunderov DV, Kalashnikov VV, Koledov VS, Krasnoperov EP, Shavrov VG, Suslov VI, Yusov NA. Application of nanostructural nickel titanium implants with shape memory effect to modern dental. ESOMAT. 2009;07001.
5. Duyck J, Slaets E, Sasaguri K, Vandamme K, Naert I. Effect of intermittent loading and surface roughness on peri-implant bone formation in a bone chamber model. J Clin Periodontol. 2007;34: 998 - 1006.
6. Li Y1, Yang C, Zhao H, Qu S, Li X, Li Y. New Developments of Ti-Based Alloys for Biomedical Applications. Materials (Basel). 2014;7(3):1709-1800.
7. Abkowitz S, Siergiej JM, Regan RR. Titanium - nickel alloy manufacturing methods. United States Patent Office Patent. 1969;3,700,434.
8. Xu JL, Bao LZ, Liu AH, Jin XF, Luo JM, Zhong ZC, Zheng YF. Effect of pore sizes on the microstructure and properties of the biomedical porous NiTi alloys prepared by microwave sintering. J Alloys Compd. 2015;645:137 - 142

9. Xiong JY, Li YC, Wang XJ, Hodgson PD, Wen CE. Titanium-nickel shape memory alloy foams for bone tissue engineering. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2008;1(3):269-273.

10. Li BY, Rong LJ, Li YY. Stress - strain behavior of porous Ni - Ti shape memory intermetallics synthesized from powder sintering. *Intermetallics.* 2000;8(5-6):643-646.

11. Assad M, Chernyshov A, Leroux MA, Rivard CH. A new porous titanium - nickel alloy: part 1. Cytotoxicity and genotoxicity evaluation. *Biomed Mater Eng.* 2002;12:225 - 237.

12. Likibi F, Assad M, Coillard C, Chabot G, Rivard CH. Bone integration and apposition of porous and non porous metallic orthopaedic biomaterials. *Ann Chir.* 2005;130:235 - 241.

13. Kujala S, Ryhanen J, Danilov A, Tuukkanen J. Effect of porosity on the osteointegration and bone ingrowth of a weight-bearing nickel - titanium bone graft substitute. *Biomaterials.* 2003;24(25):4691-4697.

14. Ayers RA, Simske SJ, Bateman TA, Petkus A, Sachdeva RLC, Gyunter VE. Effect of nitinol implant porosity on cranial bone ingrowth and apposition after 6 weeks. *J Biomed Mat Res.* 1999;45:42 - 47.

15. Kujala S, Ryhanen J, Danilov A, Tuukkanen J. Effect of porosity on the osteointegration and bone ingrowth of a weight-bearing nickel - titanium bone graft substitute. *Biomaterials.* 2003;24:4691 - 4697.

16. Mour M, Das D, Winkler T, Hoenig E, Mielke G, Morlock MM. Schilling, AF. *Advances in Porous Biomaterials for Dental and Orthopaedic Applications.*

Materials. 2010;3:2947 - 2974.

17. Geetha M, Singh AK, Asokamani R, Gogia AK. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - a review. Prog Mater Sci. 2009;54:397 - 425.

18. Nagels J, Stokdijk M, Rozing PM. Stress shielding and bone resorption in shoulder arthroplasty. J Shoulder Elbow Surg. 2003;12:35 - 39.

19. Niinomi M. Metallic biomaterials. J. Artif. Organs. 2008;11:105 - 110.

20. Niinomi M, Nakai M, Hieda J. Development of new metallic alloys for biomedical applications. Acta Biomater. 2012;8:3888 - 3903.

21. Cempel M, Nikel G. Nickel: a review of its sources and environmental toxicology. Polish J Environ Stud. 2006;15:375 - 382.

22. Denkhausa E, Salnikow K. Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. Crit Rev Oncol Hematol. 2002;42:35 - 56.

23. Xu JL, Jin XF, Luo JM, Zhong ZC. Fabrication and properties of porous NiTi alloys by microwave sintering for biomedical applications, Mater Lett. 2014;124:110 - 112.

24. Pellegrini G, Francetti L, Barbaro B, Del Fabbro M. Novel surfaces and osseointegration in implant dentistry. J Investig Clin Dent. 2018;9(4):12349.

25. Toker SM, Canadinc D, Maier HJ, Birer O. Evaluation of passive oxide layer formation - biocompatibility relationship in NiTi shape memory alloys: Geometry and body location dependency. Mater Sci Eng C. 2014;36:118 - 129.

26. Wu SL. Nickel release behavior, cytocompatibility, and superelasticity of oxidized porous single-phase NiTi. *J Biomed Mater Res A*. 2007;15;81(4):948-955.

27. Ho JPY. Oxygen plasma treatment to restrain nickel out diffusion from porous nickel titanium orthopedic materials. *Surf Coat Technol*. 2007;201:4893 - 4896.

28. Shayesteh Moghaddam N, Taheri Andani M, Amerinatanzi A, Haberland C, Huff S, Miller M, Elahinia M, Dean D. Surface modification treatments to reduce Ni leaching from porous nitinol. *Biomanuf Rev*. 2016;1:1-16.

29. Mohammad H, Elahinia, Hashemi M, Tabesh M, Sarit B. Bhaduri Manufacturing and processing of NiTi implants. *Prog Mater Sci*. 2012;57:911 - 946.

30. Schrooten J, Assad M, Van Humbeeck J, Leroux MA. In vitro corrosion resistance of porous NiTi intervertebral fusion devices. *Smart Mater Struct*. 2007;16:145 - 154.

31. Gu YW, Li H, Tay BY, Lim CS, Yong MS, Khor KA. In vitro bioactivity and osteoblast response of porous NiTi synthesized by SHS using nanocrystalline Ni - Ti reaction agent. *J Biomed Mater Res A*. 2006;78:316 - 323.

32. Shabalovskaya S. Surface, corrosion and biocompatibility aspects of nitinol as an implant material. *Biomed Mater Eng*. 2002;12:69 - 109.

33. Shabalovskaya S, Ryhanen J, Yahia LH. Bioperformance of nitinol: surface tendencies. *Shape Memory Mater Its Appl*. 2001;394-5:131 - 138.

34. Guerra I, Morais Branco F, Vasconcelos M, Afonso A, Figueiral H, Zita R. Evaluation of implant osseointegration with different regeneration techniques in

the treatment of bone defects around implants: an experimental study in a rabbit model. Clin Oral Implants Res. 2011;22(3):314-322.

35. Dahlin C, Sennerby L, Lekholm U, Linde A, Nyman S. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: an experimental study in rabbits. Int J Oral Maxillofac Implants. 1989;4(1):19-25.

36. Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss®. An experimental study in the dog. Clin Oral Implants Res. 1997;8(2):117-124.