



저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 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](#) 

2010년 8월

博士學位論文

티타늄 표면에 히알루론산의
고정화가 조골세포의 부착과
증식에 미치는 영향

조선대학교 대학원

치의학과

명 한 석

티타늄 표면에 히알루론산의
고정화가 조골세포의 부착과
증식에 미치는 영향

Effect on adhesion and proliferation of osteoblast
cell with immobilization of hyaluronic acid on
surface of titanium

2010年 8月 25日

조선대학교 대학원

치의학과

명 한 석

티타늄 표면에 히알루론산의
고정화가 조골세포의 부착과
증식에 미치는 영향

지도교수 고 영 무

이 논문을 치의학 박사학위 논문으로 제출함.

2010年 6月

조선대학교 대학원

치 의 학 과

명 한 석

명한석의 박사학위 논문을 인준함

위원장 경북대학교 교수 김 교 한 印

위 원 조선대학교 교수 황 호 길 印

위 원 조선대학교 교수 최 한 철 印

위 원 조선대학교 교수 김 병 훈 印

위 원 조선대학교 교수 고 영 무 印

2010年 6月 日

조선대학교 대학원

목 차

LIST OF FIGURES

ABSTRACT	iii
제 1장 서 론	1
제 2장 이론적 배경	3
제 1절 플라즈마 중합반응	3
제 3장 실험재료 및 방법	5
제 1절 실험재료	5
제 2절 양극산화	6
제 3절 플라즈마 중합반응	7
제 4절 히알루론산 고정화	9
제 5절 생물학적 평가	11
제 4장 실험결과 및 고찰	12
제 1절 플라즈마중합과 HA고정화	12
제 2절 표면개질된 티타늄표면의 형상.....	14
제 3절 생물학적 평가	17

제 5장 결론	19
참 고 문 헌	20

LIST OF FIGURES

Fig. 1. Bicyclic step-growth mechanism of plasma polymerization.	4
Fig. 2. Titanium disk after mechanically polishing.	5
Fig. 3. Experiment conditions and apparatus of anodic oxidation.	6
Fig. 4. Plasma deposition system for polymerization.	7
Fig. 5. Titanium disk after plasma polymerization.	8
Fig. 6. Molecular structure of allylamine.	8
Fig. 7. Molecular structure of hyaluronic acid (HA).	10
Fig. 8. Preparation of three modified surfaces (Ti, Anodized Ti, Anodized Ti/NH ₂ , Anodized Ti/NH ₂ /HA).	10
Fig. 9. ATR-FTIR spectra of (a) anodized Ti/NH ₂ and (b) anodized Ti/NH ₂ /HA.	13
Fig.10. SEM images of (a, b) Ti (c, d) anodized Ti, (e, f) anodized Ti/NH ₂ and (g, h) anodized Ti/NH ₂ /HA.	15
Fig.11. AFM images of Ti; (a, b), anodized Ti; (c, d), anodized Ti/NH ₂ ; (e, f), and anodized Ti/NH ₂ /HA; (g, h).	16
Fig.12. The result of MTT assay from the MC3T3-E1 seeded on (a) Ti, (b) anodized Ti, (c) anodized Ti/NH ₂ , (d) anodized Ti/NH ₂ /HA for 1 d, 3 d, and 6 d.	18

ABSTRACT

Effect on adhesion and proliferation of osteoblast cell with immobilization of hyaluronic acid on surface of titanium

Han-Seok Myung, D.D.S, M.S.D

Director : Prof. Yeong-Mu Ko, Ph.D., DDS

Department of Dental Science

Graduate School of Chosun University

Anodic oxidation is a commonly developed surface treatment for several applications, such as corrosion protection, aspect improvement, joining with polymers, etc. Plasma-induced graft polymerization has consequently proven highly successful as a means to develop functional interfaces for the immobilization of biomolecules. The purpose of this study was to development of bioactive functionalized titanium surface by immobilizing hyaluronic acid (HA) onto -NH₂ functionalized anodizing titanium surfaces to improve biological, physical and chemical properties of titanium. Anodized titanium surface modification was carried out by depositing an ultra thin polymeric layer containing amine groups through plasma polymerization using an allylamine (AA) monomer. A natural polymer HA was immobilized onto the -NH₂ functionalized surface in EDC - NHS aqueous solution. The modified titanium surface were characterized by X-ray photoelectron spectroscopy, scanning electron microscopy, attenuated total reflection fourier transfer infrared spectroscopy and atomic force microscope. Osteoblast like cell, MC3T3-E1 cells were cultured on each sample and the cell viability was examined using a MTT assay. 0.2–0.5μm pores (approximately) were formed on the surfaces of anodized titanium and HA was immobilized successfully with a covalent bond. The cell viability shows that significantly

enhanced viability on the anodized and HA coated anodized metals than on the unanodized metals.

제 1 장 서 론

티타늄은 예전부터 기계적 특성과 생체적합성이 뛰어나 정형외과용 뼈 삽입기재 및 치과용 임플란트 재료로 널리 이용되어왔다. 티타늄 임플란트의 골 융합은 임플란트 표면과 직접 접촉하는 임플란트 주변의 새로운 골 형성에 의해서 발생하는 생물학적 과정으로 알려져 있다^{1,2)}. 일반적으로, 이 과정은 골 유도라고 볼 수 있으며, 수많은 실험연구결과는 표면개질이 골/임플란트 융합을 증가시킬 수 있다고 보여주었다. 또한 생체재료 표면에 물리적 또는 화학적인 특성을 변화시킴으로써 생체적합성이 우수하도록 특별한 기능을 부여하는 연구가 활발히 진행되어 왔으며, 물리적 특성인 표면 거칠기는 골/임플란트 접촉면적과 역 토크 저항을 증가시킨다고 보고되고 있다³⁻⁵⁾.

티타늄금속의 양극산화처리는 처리조건에 따른 산화막의 화학적조성과 결정구조의 가변성 및 유전체의 방전을 통한 porous 티타늄 산화막 제조의 특성에 따라 많은 장점을 가지는 표면개질의 한 방법으로서 많은 주목을 받고 있다. 더욱이, 이 처리법은 양극산화처리동안에 순간적인 양극스파크에 의해 금속기재위의 산화막이 용융되는데 충분한 열을 발생시킴으로서 금속기재에 코팅되는 산화피막은 비교적 높은 접착강도를 보여준다.

한편, 히알루론산(hyaluronic acid; HA)는 세포외기질(extracellular matrix; ECM)의 주요성분의 하나로서 몸속의 모든 결합조직에서 발견되는 점탄성 특성의 선형 고분자이다⁶⁾. 또한 히알루론산은 형태형성, 창상치유, 염증, 그리고 세포 수용체를 통한 전이와 같은 생물학적 과정에 관여한다⁷⁻¹⁰⁾. 히알루론산의 카르복실기는 히알루론산 유도체의 응용의 중요한 표적이다. 골 결합의 재생의 경우, 조직공학 연구들은 골 치유를 자극하기 위하여 적절한 지지체(scaffold)에 부착된 세포와 골원성의 신호가 결합된 것이다.

표면개질기술 중에서 플라즈마를 이용한 표면개질기술은 세포의 분화 및 부착을 증진시키기 위해 생체재료표면을 화학적으로 변화시키는 기술이므로 현재 생체 의공학 분야에 널리 사용되고 있다¹¹⁻¹⁵⁾. 특히 플라즈마 중합기술로 증착된 반응기(카르복실기, 아민기, 하이드록실기, 술폰기 등)는 재료표면에 존재하면서 생체활성물질 및 단백질과 공유결합에 의한 고정화에 매우 유용

한 기술로 응용된다. 본 연구실에서는 아릴아민(Allylamine : AA)과 같이 아민기(-NH₂)를 다량 함유하는 고분자 박막코팅을 플라즈마중합반응을 이용하여 수행해왔다.

따라서 본 연구에서는 임플란트의 주재료로 널리 사용되는 티타늄표면에 양극산화법을 이용하여 다공성 티타늄산화피막을 부여한 후, 여기에 플라즈마 중합반응을 이용하여 아민기를 함유한 고분자박막을 코팅하고, 그 표면에 히알루론산을 고정화하여 MC3T3-E1세포 부착 및 증식에 미치는 영향을 평가하고자 한다.

제 2 장 이론적 배경

제 1 절. 플라즈마중합반응

플라즈마 중합반응은 기체 및 증기들의 분자들이 플라즈마 상태에서 반복적으로 활성화-비활성화 (consecutive activation-deactivation) 단계를 거치면서 고분자로 성장해 가는 과정이라 볼 수 있다. 반응기에 주입된 기체나 증기의 분자들이 플라즈마 내에 존재하는 전자, 이온, 광자 등과 같이 높은 에너지를 가지고 있는 입자들과 충돌하여 에너지를 흡수하는 활성화 단계에서 들뜬 상태의 분자들, 자유 라디칼, 이온, 이온-라디칼 등과 같은 반응기들이 생성되고, 비활성화 단계에서는 이렇게 생성된 반응기들이 낮은 에너지 상태에 있는 분자들 또는 주위의 고체 표면과 충돌하여 에너지를 방출하면서 더 큰 분자로 결합해나간다. 비 활성화된 분자들은 또 다시 활성화될 수 있으며 이 과정은 플라즈마 조건이 사라질 때까지 반복된다. Fig. 1은 플라즈마 중합반응의 2단계 메카니즘을 단순하게 나타낸 모식도이다.

플라즈마 중합반응의 장점은 다음과 같다.

- 가) 기체나 증기와 같이 가장 기초적인 소재로부터 마지막 처리단계까지 한 과정에서 이루어진다.
- 나) 0.01 μm 두께의 초박막일지라도 아무런 흠이 없이 균일하게 코팅할 수 있다.
- 다) 단량체가 반응기들을 가지고 있지 않더라도 중합시킬 수 있으므로 선택할 수 있는 코팅소재의 폭이 넓다.
- 라) 진공에서 안정한 물질이면 어떠한 물질에도 코팅 할 수가 있다.
- 마) 코팅된 박막의 접착력이 우수하다.
- 바) 건식 방법이므로 용매에 의한 환경오염이 없다.

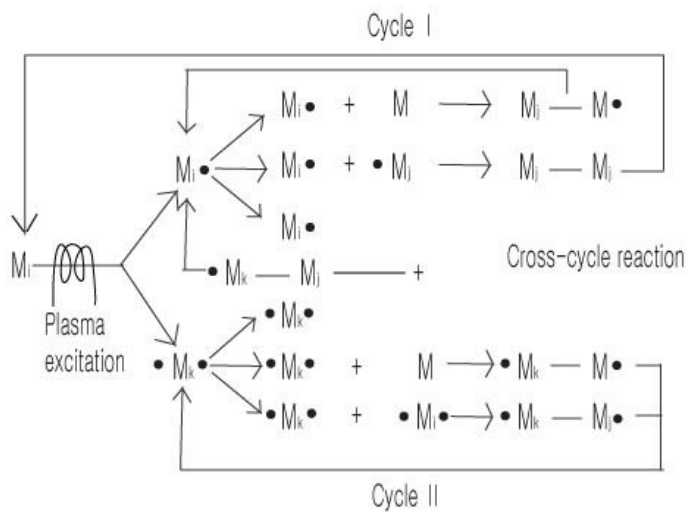


Fig. 1 Bicyclic step-growth mechanism of plasma polymerization.

제 3 장 실험재료 및 방법

제 1 절. 실험재료

본 실험에서는 상업적으로 사용되는 순수 티타늄 (NSC CP Ti, grade 2, Japan) 원판(직경 20 mm)을 시료로 사용하였고, 기계적으로 연마하였다. 시료는 아세톤과 에탄올을 1:1비율로 혼합한 용액에 1시간 동안 초음파 세척한 후 3차 탈 이온수로 세정하고 건조하여 사용하였다. Fig. 2는 기계적으로 연마 후 세척, 건조한 티타늄 원판의 실물사진을 나타내었다.



Fig. 2. Titanium disk after mechanically polishing.

제 2절 양극산화

본 실험에서 이용된 양극산화 실험방법은 다음과 같이 수행하였다.

- 1) 5.5M HNO₃에 불산(HF)용액을 몇 방울 첨가하여 제조된 용액에 5분간 티타늄시편을 침지한 후 아세톤, 알코올, 증류수를 이용하여 세척하였다.
- 2) 1M H₃PO₄용액을 전해질로 사용하여 전해전압을 180V로 인가하여 양극산화처리를 하였다.

Fig. 3 양극산화실험조건과 실험장치의 모식도를 나타낸 것이다.

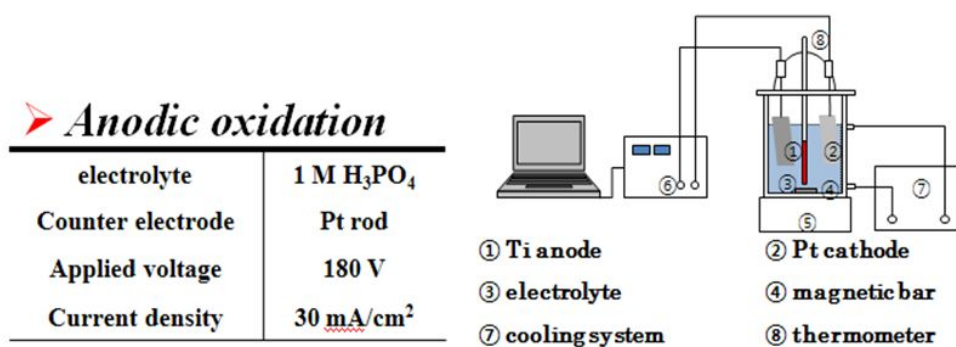


Fig. 3. Experimental conditions and apparatus of anodic oxidation.

제 3 절. 플라즈마 중합반응

Fig. 4는 플라즈마마트 (Miniplasma station, Korea)에서 구입한 플라즈마 증착장비의 실물사진과 장비 구성도를 나타내었다. 플라즈마장비는 산소와 아르곤가스공급라인과 진공챔버 그리고 플라즈마 발생장치로 구성되어있다. 플라즈마방전은 상온, 수 mm torr에서 이루어진다. 고분자 모노머는 아릴아민(AA)을 사용하였고, 분자구조는 Fig. 6에 나타내었다. 티타늄 시료표면의 세정이나 표면 활성화를 부여하기 위하여 시료 전처리를 산소(O₂)가스로 유속 6.4 sccm, 플라즈마 방전세기 60 W 조건으로 5분간 수행하였다. 이어서 플라즈마중합반응은 AA를 3.2 sccm 유속으로 플라즈마 반응기 안에 도입하고 30 W에서 5분간 반응시킨 후 3차 증류수로 세척하였으며, 진공오븐에서 건조 시키고 HA 고정화실험에 사용하였다.

Fig. 5는 플라즈마 중합반응 후 PAA(poly allylamine)박막이 코팅된 티타늄 원판을 실물 그대로 찍은 것이다. Fig. 2에서 보여준 무 처리 티타늄 원판의 표면에 비해 PAA 고분자박막이 코팅되어 빛 반사 굴절율의 변화로 약간의 색깔이 보이는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 5).

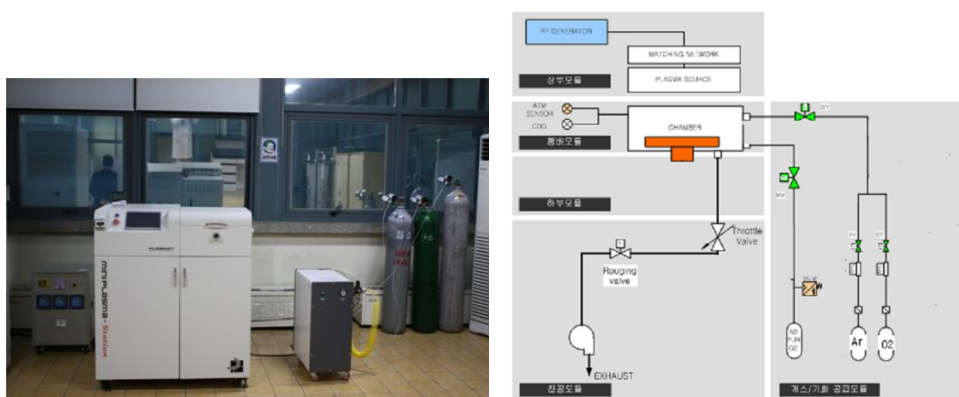


Fig. 4. Plasma deposition system for polymerization.

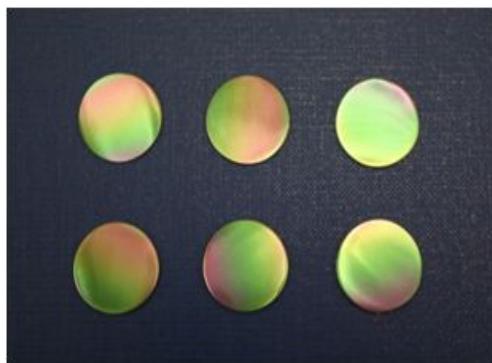


Fig. 5. Titanium disk after plasma polymerization.

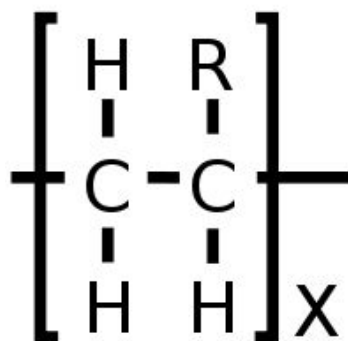


Fig. 6. Molecular structure of allylamine.

제 4 절. 히알루론산(HA)의 고정화

플라즈마중합반응 후 HA 고정화 과정은 다음과 같이 수행하였다.

- 1) 시료를 반응기에서 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) 와 N-Hydroxysuccinimide (NHS)의 중량비를 4:1로 용액을 제조한 후 0-4 °C에서 2시간 동안 반응시켰다.
- 2) Hyaluronic acid 용액 0.05g를 넣고 100ml 증류수로 용액을 제조한 후 EDC로 활성화된 티타늄표면을 0-4 °C에서 24시간 동안 반응시켰다.
- 3) 미 반응된 물질을 제거하기 위해 3차 증류수로 여러번 세척 한 후 진공 오븐에서 건조시켰다.

Fig. 7은 히알루론산의 분자구조를 나타내었다. 히알루론산은 글루쿠로닉산과 N-아세틸-글루코사민 β-1,4나 β-1,3 glycosidic 결합으로 이루어져 있다. 또한 크기는 5,000에서 20,000,000 Da이다.

Fig. 8은 실험공정의 각 단계를 간단히 모식도로 나타내었다. 티타늄표면은 3종류의 표면개질된 시편을 보여준다. 양극산화법으로 산화피막 기공을 부여하여 양극산화로 개질된 표면을 가진 티타늄 (Anodized Ti), 플라즈마중합공정으로 아민기를 코팅한 티타늄 (Anodized Ti/NH₂), 그리고 HA를 아민기와 공유결합으로 고정화 한 티타늄 (Anodized Ti/NH₂/HA)으로 구성되어 있다.

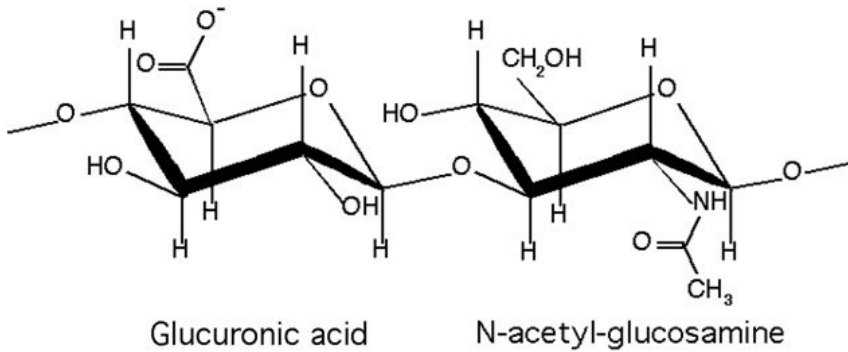


Fig. 7. Molecular structure of hyaluronic acid (HA).

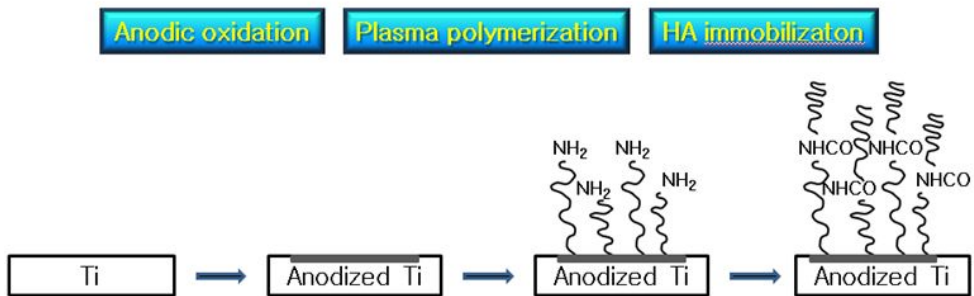


Fig. 8 Preparation of three modified surfaces (Ti, Anodized Ti, Anodized Ti/NH₂, Anodized Ti/NH₂/HA)

제 5 절. 생물학적 평가

MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide to a purple formazan product) assay는 생명과학 분야에서 세포부착력과 세포 증식률을 측정하는 대표적인 실험 방법이다¹⁷. 본 연구에서는 MC3T3-E1 (subclone 4, CRL-2593) 세포를 ATCC로부터 구매하여 사용하였다. 배양된 세포는 배지를 모두 제거한 후 PBS를 이용하여 세척하였으며 trypsin/EDTA를 소량 첨가하여 배양접시로부터 분리시켰다. 분리된 세포에 FBS가 포함된 배지를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 원심분리기를 이용하여 세포를 수집하였다. 세포에 배지를 첨가하여 다시 부유 시킨 후 준비된 샘플이 첨가된 12-well plate에 각각 1×10^5 cells/well을 파종하였다. 세포는 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 각각 1일, 3일, 6일 동안 배양한 후 MTT를 첨가하여 청자색의 결정이 생성되는 것을 확인한 후 이소프로필알콜(Isopropyl alcohol, Sigma)을 이용하여 용해하였다. 흡광도를 측정하기 위해 반응액을 96-well plate에 각각 200 μ L씩 분주한 후 ELISA reader (Thermal Fisher SCIENTIFIC)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

제 4 장 실험결과 및 고찰

제 1 절. 플라즈마 중합과 HA 고정화

플라즈마중합 처리한 Ti/NH_2 과 HA를 고정화한 $\text{Ti}/\text{NH}_2/\text{HA}$ 샘플 2개를 각각 ATR-FTIR로 분석하여 Fig. 9에 나타내었다. Fig. 9 (a)는 양극산화 처리된 티타늄표면에 플라즈마 중합반응을 이용하여 NH_2 를 코팅한 Ti 샘플표면으로 전 영역에 ATR-FTIR 스펙트럼을 나타내었다. 그리고 Fig. 9 (b)는 (a)의 샘플표면에 HA를 공유결합한 표면의 스펙트럼을 나타낸 것이다. 스펙트럼 (a)에서는 1500에서 2000 cm^{-1} 사이에서 아민기의 N-H 결합구조를 보여주고 있는 반면에, (b)에서는 N-H결합이 없어지고 C=O결합이 나타났다. 따라서 이러한 FTIR 스펙트럼 분석결과로 인하여 티타늄표면에 아민기와 HA 고정화가 잘 되어있음을 확인 할 수 있었다.

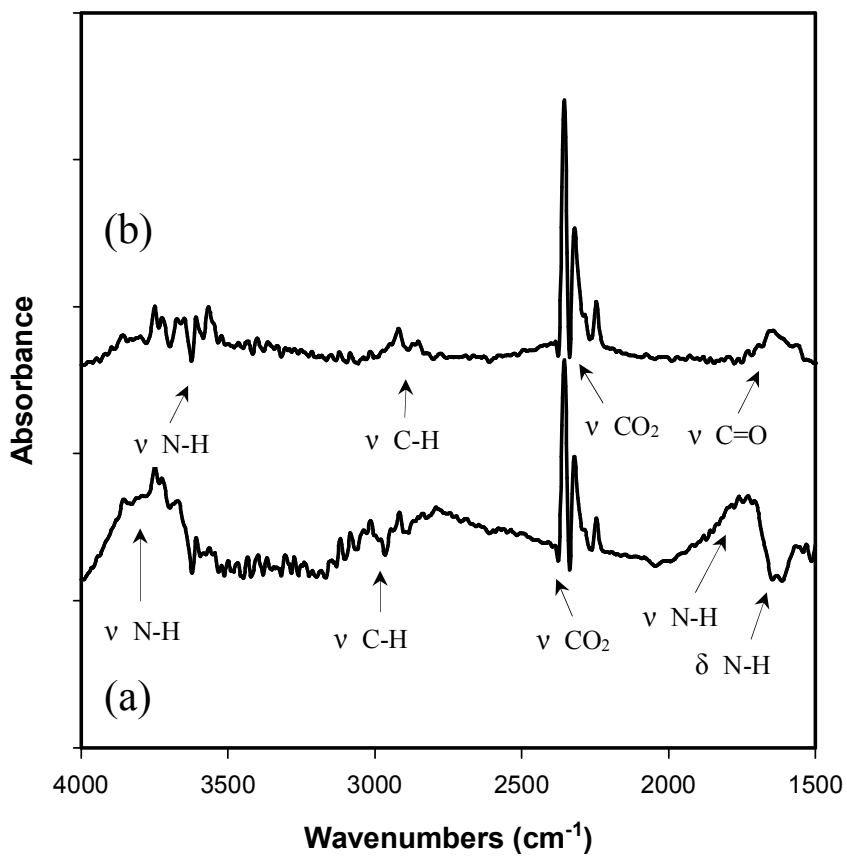


Fig. 9. ATR-FTIR spectra of (a) anodized Ti/NH₂ and (b) anodized Ti/NH₂/HA.

제 2 절. 표면개질된 티타늄표면의 형상

Fig. 10은 표면개질된 티타늄표면을 전자현미경(SEM)으로 각각 x1000, x10,000배를 관찰하여 비교한 결과를 나타내었다. Fig. 10 (a)와 (b)는 무처리 티타늄(대조군)표면으로 편평한 표면형상으로 보이고 있다. 그러나 양극산화 처리한 티타늄표면 (c)와 (d)에서는 표면에 pore가 존재하는 것을 확인 할 수 있었다. 이것은 양극산화 처리 후 티타늄산화피막이 코팅되면서 많은 pore가 만들어지는 것으로 볼 수 있다. Fig. 10 (e)와 (f)는 티타늄표면에 플라즈마 중합반응에 의해서 PAA 고분자박막이 코팅되면서 표면이 더욱더 거칠어지고, 층 덮임이 관찰되었다. 그리고 pore의 크기가 작은 것은 pore 막힘 현상을 보여주고 있다. Fig. 10 (g)와 (h)는 HA를 고정화한 티타늄표면형상을 관찰한 것으로 pore의 막힘이 더욱 더 증가한 것을 볼 수 있다.

Fig. 11은 3차원 이미지 표면형상의 변화와 평균 조도를 조사하기 위하여 AFM (atomic force microscopy)을 이용하여 관찰한 사진이다. 또한 AFM 분석배율은 $2\mu\text{m} \times 2\mu\text{m}$ 와 $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ 이미지로 관찰하여 각각의 샘플의 거칠기를 살펴보았다. Fig. 11에 (a)와 (b)는 표면이 편평한 형상을 보여주고 있고, $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ 배율에서 평균조도는 4.78 nm정도를 나타냈다. (c)와 (d)는 양극산화 처리된 티타늄표면으로 거칠기가 증가되어, 평균조도는 64.88 nm를 보여주었다. 이러한 결과는 표면기공이 무수히 존재하면서 거칠기가 증가되었다고 사료된다. Fig. 11 (e)와 (f)는 양극산화 처리된 티타늄표면에 플라즈마를 이용하여 아민 고분자박막을 코팅한 표면으로서 평균조도($R_a=55.32$ nm)는 오히려 조금 감소하였다. 이것은 고분자박막이 티타늄표면의 작은 기공을 층 덮힘(step coverage)현상으로 막아서 그런 결과가 초래 되었을 것으로 생각된다. 그리고 이러한 현상은 Fig. 10 (e)와 (f)의 전자현미경 표면관찰의 결과가 유사한 양상을 보이고 있다. 최종적으로 HA를 고정화한 티타늄 표면의 형상은 Fig. 11 (g)와 (h)에 보여주었다. 평균조도는 68.44 nm로 나타났다. 다시 평균조도가 증가한 이유는 HA고분자가 고정화되어 나타난 현상으로 생각된다.

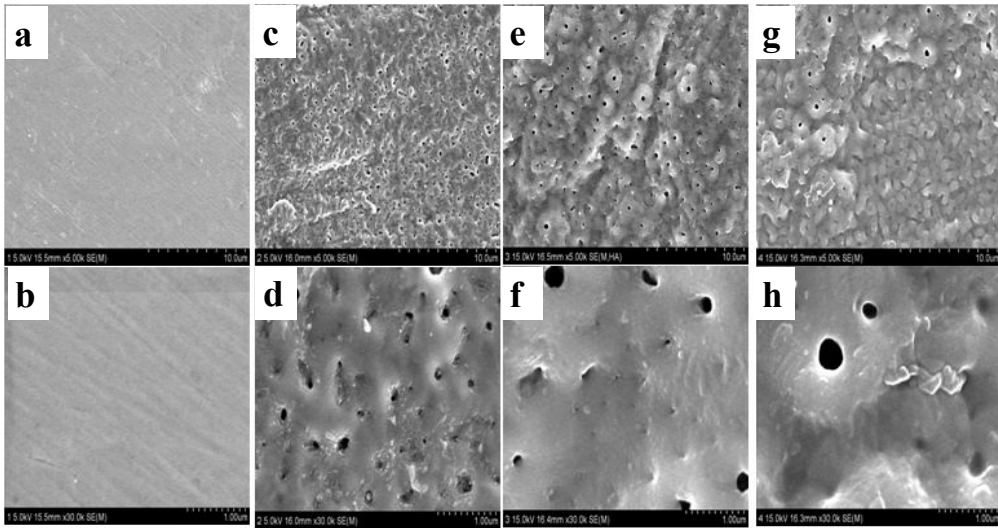


Fig. 10 SEM images of (a, b) Ti (c, d) anodized Ti, (e, f) anodized Ti/NH₂ and (g, h) anodized Ti/NH₂/HA.

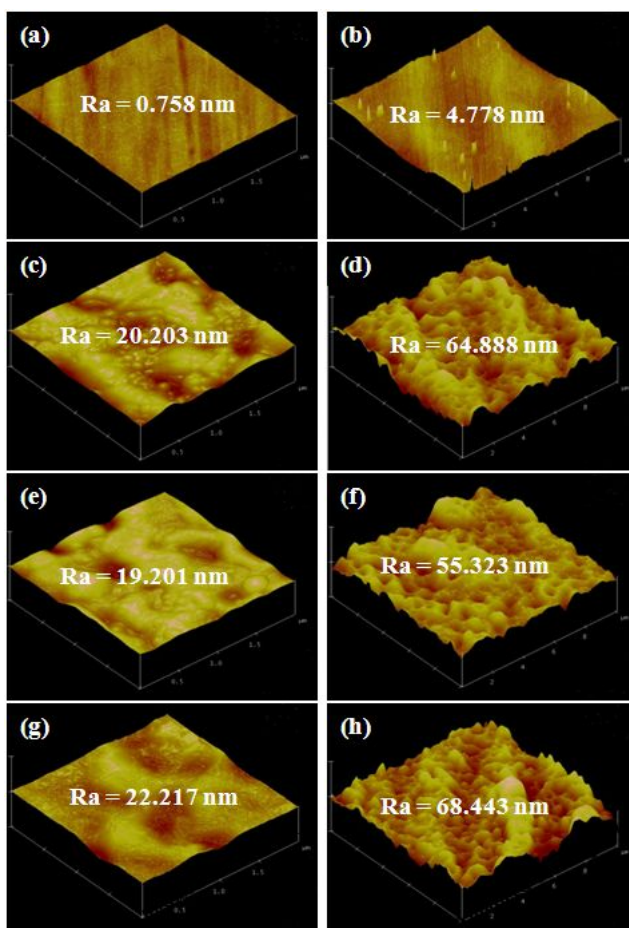


Fig. 11 AFM images of Ti; (a, b), anodized Ti; (c, d), anodized Ti/NH₂; (e, f), and anodized Ti/NH₂/HA; (g, h).

제 3 절. 생물학적 평가

개질된 표면과 HA가 고정화된 표면에 대한 MC3T3-E1 세포 부착력 및 증식력에 관한 평가는 MTT 분석법을 통해 살펴보았다. Ti, anodized Ti, anodized Ti/NH₂, anodized Ti/NH₂/HA를 실험군으로 사용하였고 조직배양 플레이트를 대조군으로 사용하여 실험을 행하였다. 세포의 생존률 및 증식률은 미토콘드리아 활성법과 직접 연관이 있는 MTT 방법을 통해 조사해보았다. MC3T3-E1의 세포 생존률은 각각 1일, 3일, 6일 동안 배양하여 Fig. 12에 나타내었다. 실험군에서 대조군보다 생존율이 감소했으나, 이것은 조직배양 플레이트를 양성대조군으로 사용하였기 때문이다. 따라서 음성대조군인 무처리 티타늄과 실험군인 anodized Ti/NH₂/HA를 비교해보면 약 80% 정도 생존율이 증가함을 확인 할 수 있었다. 티타늄표면에 양극산화 처리된 표면은 MC3T3-E1세포의 생존율에 거의 영향을 미치지 않았으며, 여기에 아민기를 코팅한 표면은 3일째에 우수한 생존율을 보여주었다. 향후 보다 더 오랜기간 동안 세포를 배양하여 검증할 필요가 있으며, ALP분석, 석회화 등 분석이 필요할 것으로 생각된다.

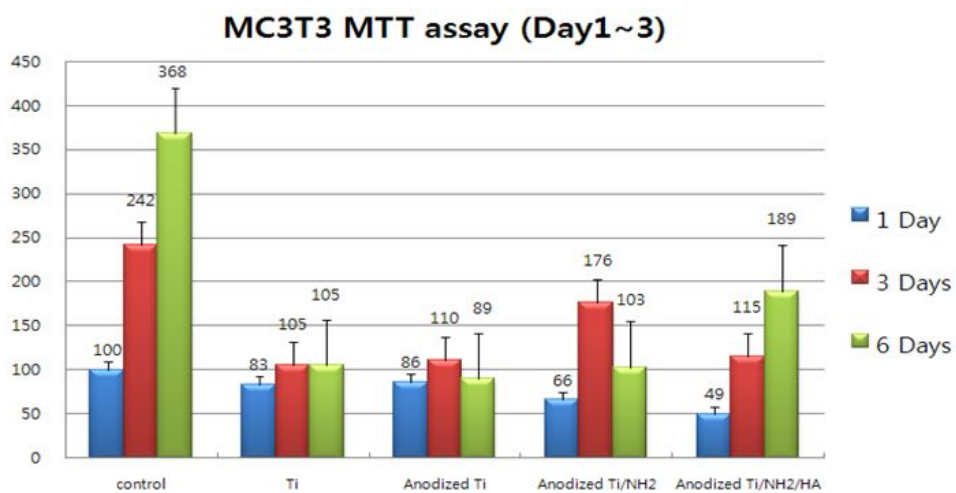


Fig. 12 The result of MTT assay from the MC3T3-E1 seeded on (a) Ti, (b) anodized Ti, (c) anodized Ti/NH₂, (d) anodized Ti/NH₂/HA for 1 d, 3 d, and 6 d.

제 5 장 결론

위의 결과들을 통하여 본 연구에서 목적했던 두었던 양극산화 처리후 다공성 티타늄 산화피막 표면에 아민기를 코팅하여 생체활성물질인 HA를 고정화하는 실험은 성공적으로 이루어진 것을 확인할 수 있었다. 또한 MTT 분석 결과 히알루론산이 조골세포 MC3T3-E1의 세포부착 및 세포증식에 큰 영향을 미치고 있음을 확인할 수 있었다. 향후 ALP test, calcification 실험을 연결하여 진행하면 HA가 골 형성에 미치는 영향을 자세히 확인할 수 있을 것으로 사료된다. 그리고 임플란트 산업분야에 본 연구에서 사용된 양극산화처리법, 플라즈마 중합기술 및 생체활성물질의 고정화기술은 널리 응용될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Albrektsson, T. (1983) Direct bone anchorage of dental implants. *J. Pros. Dent.* **50**: 255 - 261.
2. Brånemark, P.I. (1983) Osseointegration and its experimental background. *J. Pros. Dent.* **50**: 399-410.
3. Wennerberg, A., Hallgren, C., Johansson, C. Danelli, S. (1998) A histomorphometric evaluation of screwshaped implants each prepared with two surface roughnesses. *Cli. Oral Implants Res.* **9**: 11 - 19.
4. Cochran, D.L., Schenk, R.K., Lussi, A., Higginbottom, F.L. Buser, D. (1998) Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acidetched surface: a histometric study in the canine mandible. *J. Biomed. Mat. Res.* **40**: 1-11.
5. Buser, D., Nydegger, T., Hirt, H.P., Cochran, D.L. Nolte, L.-P. (1998) Removal torque of titanium implants in the maxilla of miniature pigs. *Int. J. Oral Maxil. Implants* **13**: 611-619.
6. Laurent TC, Laurent UB, Fraser JR. (1995) Functions of hyaluronan. *Ann Rheum Dis* **54**: 429 - 432.
7. Ladeda V, Aguirre Ghiso JA, Bal de Kier Joffe E. (1998) Function and expression of CD44 during spreading, migration, and invasion of murine carcinoma cells. *Exp Cell Res* **242**: 515 - 527.
8. Zhang S, Chang MC, Zylka D, Turley S, Harrison R, Turley EA. (1998) The hyaluronan receptor RHAMM regulates extracellular regulated kinase. *J Biol Chem* **273**: 11342 - 11348.
9. Entwistle J, Hall CL, Turley EA. (1996) HA receptors: regulators of signalling to the cytoskeleton. *J Cell Biochem* **61**: 569 - 577.
10. Turley EA. (1992) Hyaluronan and cell locomotion. *Cancer Metastasis*

Rev 11: 21 - 30.

11. Rammelt S, Illert T, Bierbaum S, Scharnweber D, Zwipp H, Schneiders W. (2006) Coating of titanium implants with collagen, RGD peptide and chondroitin sulfate. *Biomaterials* **27**: 5561 - 5571.
12. Barber TA, Gamble LJ, Castner DG, Healy KE. (2006) In vitro characterization of peptide-modified p(AAm-co-EG/AAc) IPNcoated titanium implants. *J Orthop Res* **24**: 1366 - 1376.
13. Schuler M, Owen GR, Hamilton DW, de Wild M, Textor M, Brunette DM,(2006). Biomimetic modification of titanium dental implant model surfaces using the RGDSP-peptide sequence: a cell morphology study. *Biomaterials* **27**: 4003 - 4015.
14. Petrie TA, Capadona JR, Reyes CD, Garcia AJ. (2006) Integrin specificity and enhanced cellular activities associated with surfaces presenting a recombinant fibronectin fragment compared to RGD supports. *Biomaterials* **27**: 5459 - 5470.
15. Elmengaard B, Bechtold JE, Soballe K. (2005) In vivo effects of RGDcoated titanium implants inserted in two bone-gap models. *J Biomed Mater Res A* **75**: 249 - 255.

저작물 이용 허락서

학 과	치의학	학 번	20087430	과 정	박사
성 명	한글: 명한석 한문 : 明韓錫 영문 : Han Seok Myung				
주 소	경기도 안산시 단원구 초지동 제일프라자 2층 안산미앤미 치과				
연락처	011-9167-5061	E-MAIL	dds0522@naver.com		
논문제목	한글: 티타늄 표면에 히알루론산의 고정화가 조골세포의 부착과 증식에 미치는 영향				
	영어: Effect on adhesion and proliferation of osteoblast cell with immobilization of hyaluronic acid on surface of titanium				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제,
기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함.
다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가
없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을
경우에는
1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에
의한
권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한
저작물의
전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(0) 반대()

2010 년 6 월 23 일

저작자: 명 한 석 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하