

2011년 2월

碩士學位論文

티타늄 표면처리에 따른
조골모세포 증식에 관한 연구

조선대학교 대학원

치의학과

이 병 진

티타늄 표면처리에 따른
조골모세포 증식에 관한 연구

Study on Proliferation of Osteoblast cell with
Titanium Surface Treatment

2011年 2月 25日

조선대학교 대학원

치의학과

이 병 진

티타늄 표면처리에 따른
조골모세포 증식에 관한 연구

지도교수 고 영 무

이 논문을 치의학 석사학위 논문으로 제출함.

2010年 10月

조선대학교 대학원

치 의 학 과

이 병 진

이병진의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 최 한 철 印

위 원 조선대학교 교수 김 병 훈 印

위 원 조선대학교 교수 고 영 무 印

2010年 11月 日

조선대학교 대학원

목 차

LIST OF FIGURES	ii
LIST OF Tables	iii
ABSTRACT	iv
제 1장 서 론	1
제 2장 실험재료 및 방법	3
제 1절 티타늄 시편	3
제 2절 TiO ₂ 나노메시 표면제조	4
제 3절 표면분석	7
제 4절 MC3T3-E1 세포배양	8
제 5절 MTT 분석	9
제 3장 실험결과	10
제 1절 TiO ₂ 나노메시 표면분석	10
제 2절 MC3T3-E1 세포증식	15
제 4장 고찰	19
제 5장 결론	21
참 고 문 헌	22

LIST OF FIGURES

Fig. 1. Preparation of alkali treatment process	5
Fig. 2. Titanium disk of (a) polished surface and (b) alkali treated surface	6
Fig. 3. FE-SEM images of polished Ti (a) and alkali treated Ti (b-d). (b) × 10k, (c) × 30k and (d) × 50k.	11
Fig. 4. Water droplet on Ti substrates showed the hydrophilicity of different surfaces. (a) untreated Ti and (b) alkali treated Ti .	12
Fig. 5. XPS narrow spectra of nano-mesh formed on Ti surfaces. (a) Ti 2p and (b) O 1s.	13
Fig. 6. The results of MTT assay for MC3T3-E1 seeded on different surface for 1 day.	16
Fig. 7. The results of MTT assay for MC3T3-E1 seeded on different surface for 3 days.	17
Fig. 8. The results of MTT assay for MC3T3-E1 seeded on different surface for 5 days.	18

LIST OF TABLES

Table 1. Chemical composition of the surface untreated Ti and alkali treated Ti determined by XPS	5
---	---

ABSTRACT

Study on Proliferation of Osteoblast cell with Titanium Surface Treatment

Byung-Jin Lee, D.D.S, M.S.D

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

Department of Dental Science

Graduate School of Chosun University

Recently, biocompatibility report revealed that the TiO_2 nano-mesh structure has much higher cells colonization than the native TiO_2 on Titanium (Ti) surface. TiO_2 nano-mesh surface could be provided by alkali-treatment. Surface morphology and chemical composition of samples were characterized by field emission scanning electron microscopy (FE-SEM), contact angle measurement and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). The surface of nano-mesh formed on the Ti was contained mainly TiO_2 phase. Ti surface was treated by Alkali treatment in order to property of hydrophobic alter to hydrophilic surfaces. Usually, the hydrophilic surface is suitable for the cell adhesion. The cell viability test revealed that significantly enhanced viability on alkali treated Ti surface showed good proliferation after 1 day cell seeding. However, after the 3 and 5 days showed negative effect on cell proliferation compared with untreated surface.

제 1 장 서 론

티타늄(Titanium, Ti)이 생체의료용으로 적용되기 시작한 것은 1950년대 말이며, Ti의 우수한 강도, 부식저항성, 피로저항성 등으로 오늘날까지 정형외과, 치과용 보철물, 약안면 보철물 및 심장혈관계통 의료기기용 핵심소재로서 꾸준히 사용되고 있다. 다른 생체 의료용 금속재료와 마찬가지로 티타늄 역시 공업적으로 개발된 금속을 생체의료용으로 그대로 적용해 왔으나, 1990년대 중반부터는 생체의료용으로 적용할 목적으로 새로운 표면처리가 연구되어지고 있다.¹⁻⁴⁾ 티타늄표면은 공기 중에 노출 되었을 때는 치밀한 박막 형태의 보호 산화층 (주로 이산화 티타늄; TiO_2)이 빠르게 형성된다. 이러한 산화막은 뛰어난 내 부식성과 생체적합특성을 갖는다. 티타늄 임플란트가 인체에 이식될 때, 주위조직과 직접적으로 TiO_2 막이 접촉한다. 이러한 이유 때문에 티타늄 임플란트의 생체적합성은 표면형상, 화학조성, 미세구조와 같은 표면 산화막의 특성에 의존한다. 티타늄을 현재 임상에서 널리 사용하고 있지만, 풀리지 않은 몇 가지 문제점을 안고 있다. 예를 들면, 티타늄 표면에 생성된 이산화 티타늄 산화막의 보호기능은 불소이온에 의하여 파괴될 수 있고, 티타늄 금속과 접촉할 때 환자들은 알러지 반응과 조직변색을 보일 것이다.⁵⁻⁷⁾ 치과용 임플란트 시술 실패의 일부는 임플란트 표면특성과 관련이 있다.⁸⁻¹²⁾ 그러므로 적절한 임플란트 표면처리는 성공적인 치과용 임플란트 시스템에서 중요한 역할을 한다고 생각 할 수 있다. 생물학적 조직과 임플란트 사이에 계면반응을 향상시키기 위하여 여러 가지 방법들이 사용되었다. 티타늄 임플란트에 대한 표면처리법 중에서, 표면형상개질은 임플란트에 세포반응을 향상시키는데 사용되어왔다. 조골모 세포는 표면 개질된 티타늄금속에 잘 부착하고 스프레딩 된다. 이러한 세포들은 금속표면의 기공 속으로 성장하고 세포외기질(extracellular matrix)을 형성하는 것을 관찰 할 수 있다.¹³⁾ 티타늄 임플란트 표면의 적당한 다공성 구조는 생체적합성이 중요한 관건 일 때는 매우 결정적인 역할을 한다. 그러므로 많은 연구자들은 이상적인 생물학적 반응을 얻어내기 위하여 다공성 티타늄 임플란트 표면에 만드는 데 사용되는 방법들을 연구해 왔다.¹⁴⁻¹⁶⁾ 연구된 방법 중에 하나는 티타늄금

속을 알칼리용액에 60℃, 24시간동안 침적하고, 이를 다시 600℃, 1시간동안 열처리 하는 것이다. 이 과정에서 다공성 티타늄 표면에 소듐 티타네이트 (sodium titanate)막이 형성되었고, 이러한 소듐 티타네이트는 유사체액 (simulated body fluid)에서 골 모 아파타이트를 유도한다. 이 방법으로 티타늄 표면에 생체활성이 우수한 조대 다공성 표면막이 제조 되었다.¹⁴⁾ 또한 특별한 화학적 그리고 열처리를 수행한 후에 유사한 기공, 생체활성이 우수한 티타늄금속이 개발 할 수 있다는 연구가 밝혀졌다.^{15, 16)} 그러나 생체활성이 우수한 다공성 티타늄을 제조하기 위하여 대부분 침적, 화학적 또는 열처리과정은 비교적 복잡하고 시간이 많이 소요된다. 최근에 전기 화학적방법의 의료용 임플란트 용도로 다공성 티타늄 금속을 제조하기위한 강력한 대안으로서 연구되어 지고 있다.¹⁷⁻¹⁹⁾ 전기 화학적방법은 불소용액에서 티타늄표면에 자기 조직된(self-organized) 그리고 자기 정렬된(self-ordered) TiO₂ 나노튜브를 제조하는데 사용되어 왔다.^{20, 21)} 체외에서 진행하는 세포적합성 보고서는 나노 구조를 갖는 티타늄 표면이 종래의 티타늄 표면보다 더욱더 높은 세포 (쥐 상피세포 L929) 군집을 형성한다고 밝혔다.²²⁾ 그러나 전기 화학적방법 또는 알칼리처리로 제조된 다공성 또는 나노-스케일 티타늄표면에 대한 생체 내 그리고 생체 외적인 세포반응에 대한 종합적인 정보가 거의 없다.

따라서 본 연구에서는 알칼리 처리법을 이용하여 티타늄표면에 다공성 TiO₂ 나노메시 구조를 제조하고 그 표면이 조골모 세포(MC3T3-E1)의 증식에 미치는 MTT 방법으로 평가하고자 한다.

제 2 장 실험재료 및 방법

제 1 절. 티타늄 시편

본 실험에서는 상업적으로 사용되는 순수 티타늄 원판 (NSC CP-Ti, grade 2, Japan)을 직경 20 mm로 가공하여 시료로 사용하였고, 기계적 연마는 #100, #600, #800, #1200, #2000 grit SiC 연마지로 단계적으로 습식 연마하였다. 연마한 시료는 아세톤과 에탄올을 1:1 비율로 혼합한 용액에 1시간동안 초음파 세척한 후 3차 탈 이온수로 세정하여 건조하여 사용하였다.

제 2 절. TiO₂ 나노메시 표면 제조

Fig. 1은 알칼리 처리 공정을 간략히 나타내었다. TiO₂ nano-mesh 표면을 형성하기 위하여 연마와 세척이 끝난 티타늄 원판을 60℃의 5 M NaOH(sodium hydroxide, 99% DAEJUNG Chem., Korea) 용액에 침지한 후 24시간 동안 유지하였다. 알칼리 처리된 시편을 3차 탈 이온수로 세정한 다음 표면의 남아 있는 Na 이온을 제거하기 위하여 80 ℃의 3차 탈 이온수에 48시간동안 침지한 후, 40℃의 진공오븐에서 건조를 실시하였다. Fig. 2는 기계적 연마 후 세척, 건조한 티타늄 원판과 알칼리 처리된 시료의 실물사진을 나타내었다.

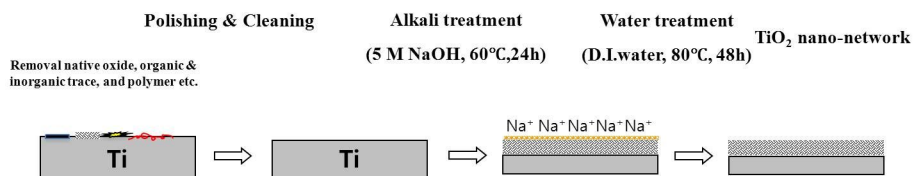


Fig. 1. Preparation of alkali treatment process.

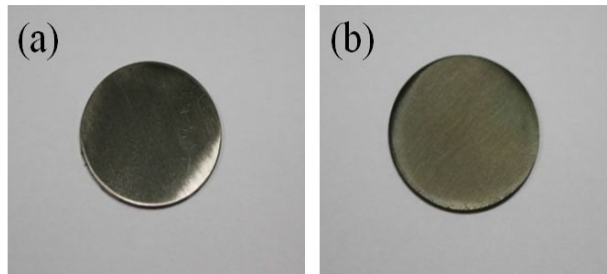


Fig. 2. Titanium disk of (a) polished surface and (b) alkali treated surface.

제 3 절. 표면분석

주사전자현미경 (SEM, scanning electron microscopy, S-4800, Hitachi)을 이용하여 나노메시가 형성된 코팅층을 관찰하였고, 나노메시 표면에 X-ray를 조사하여 발생된 광전자 (photoelectron)의 고유 결합에너지 (binding energy)를 산정, 시편 표면에 형성된 나노메시 층과 화학적 조성 및 결합상태를 X-선 광전자분광기 (XPS, X-ray photoelectron spectroscopy, ESCA 2000, VG microtech, England)를 이용하였다.

나노메시 표면의 젖음성을 관찰하기 위하여 접촉각을 측정하였다. # 1200번까지 연마된 Ti 와 나노메시가 형성된 Ti를 시편을 60℃에서 24시간 건조한 후, 증류수 5 μ l를 시편에 떨어뜨린 다음 5초 후 접촉각 측정기 (GSX-300, SurfaceTech Co., Korea)를 이용하여 측정하였다.

제 4 절. MC3T3-E1 세포배양

세포 배양은 α -MEM(Alpha Minimum Essential Medium with ribonucleosides, deoxyribonucleosides, 2 mM L-glutamine and 1 mM sodium pyruvate, but without ascorbic acid/GIBCO, Custom Product, Catalog No. A1049001)배지에 growth factor를 제공하는 10% (w/v) fetal bovine sereum(PAA Laboratoris.inc A15-751)과 항생제인 amphotericin(Lonza walkersville MD USA 0719)을 혼합하여 37°C가 유지되며 5% CO₂가 공급되는 incubator에서 48시간 배양하였다. 그리고 계대배양을 통해서 얻어진 4세대 세포를 incubator에서 1일 동안 배양하여 실험에 사용하였다.

제 5 절. MTT 분석

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 3 장 실험결과

제 1 절. TiO_2 나노메시 표면분석

Fig. 3 은 알칼리 처리전의 연마된 Ti와 24시간동안 알칼리 처리된 표면의 미세구조를 전자현미경을 이용하여 관찰한 것으로, 알칼리 처리 후의 표면에 나노크기의 망상구조 관찰되었다. 고배율로 관찰한 결과, 100 nm크기의 가지 형태가 그물구조로 엮인구조가 형성되어 200 ~ 400 nm의 크기를 갖는 기공을 형성하였다 [Fig. 3 (d)].

Fig. 4 는 나노메시의 표면의 접촉각을 측정한 결과이다. 처리하지 않은 Ti의 경우 $55\sim 60^\circ$ 접촉각을 나타내었고, 나노메시가 형성된 표면은 매우 낮은 접촉각을 나타내었다. 낮은 접촉각을 갖는 표면이 cell과의 접촉시 세포 접착과 매우 밀접한 관련이 있으며 친수성을 가지는 세포의 부착이 우수하여 임플란트와 같은 생체재료로써 사용이 가능하다고 보고되고 있다.²³⁾

Fig. 5 는 XPS를 이용하여 나노메시 구조표면의 화학결합을 분석하기 위하여 Ti (2p) 와 O (1s)의 피크에 대해 narrow analysis 를 실시한 결과이다. (a)의 경우 Ti 2p_{3/2} 와 Ti 2p_{1/2}의 결합에너지를 관찰한 것으로 나노메시가 형성된 경우 알칼리 처리되지 않은 순수한 Ti에 비교하여 낮아지는 것을 관찰하였고, 산소의 결합구조를 관찰한 결과 나노메시가 형성된 경우 증가하는 것을 관찰하였다. 표면의 화학조성은 표1에 나타내었다.

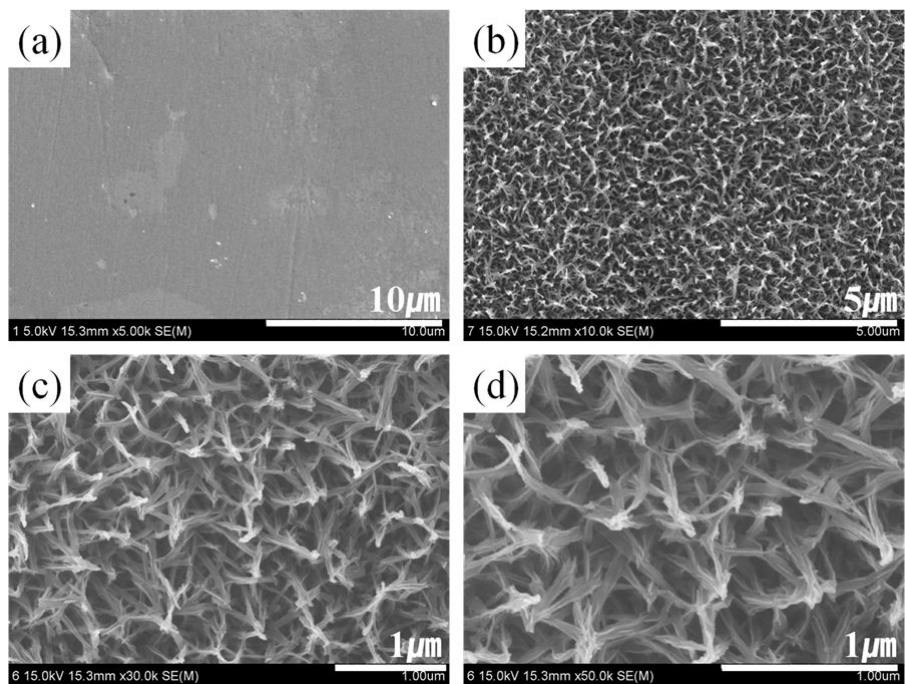


Fig. 3. FE-SEM images of polished Ti (a) and alkali treated Ti (b-d).
(b) $\times 10k$, (c) $\times 30k$ and (d) $\times 50k$.

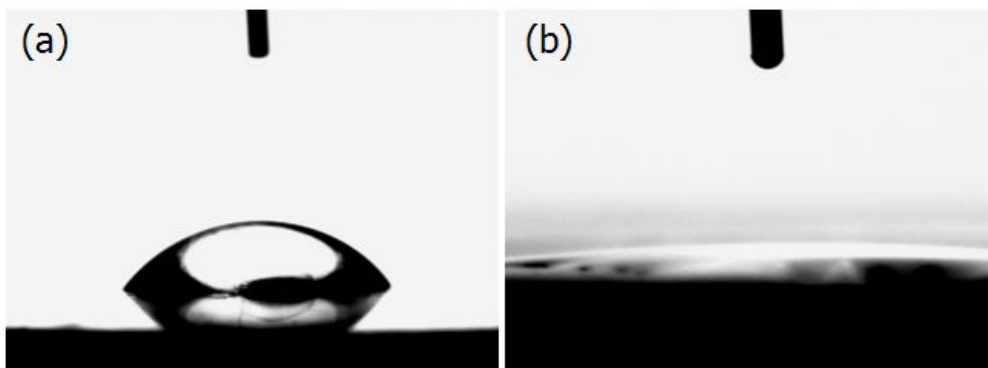


Fig. 4. Water droplet on Ti substrates showed the hydrophilicity of different surfaces. (a) untreated Ti and (b) alkali treated Ti.

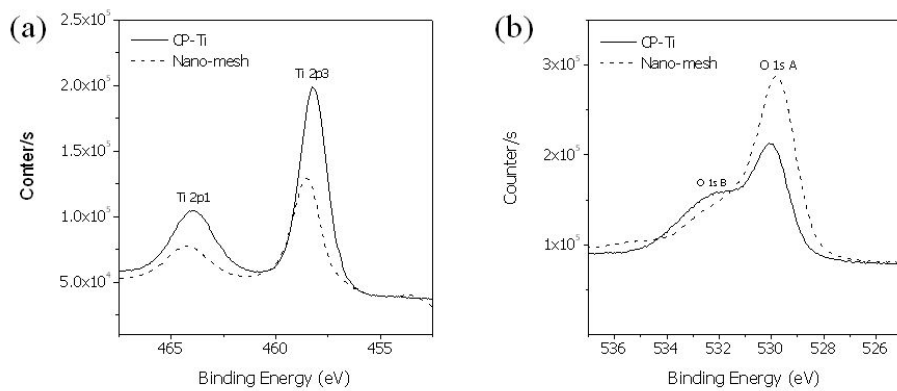


Fig. 5. XPS narrow spectra of nano-mesh formed on Ti surfaces. (a) Ti 2p and (b) O 1s.

Table 1. Chemical composition of the surface untreated Ti and alkali treated Ti determined by XPS

Samples	Atomic percent (%)				
	% Ti2p	% Na	% C1s	% O1s	% N1s
Ti	13.28		27.43	48.67	0.56
TiO₂ NT	9.03	1.35	22.04	54.98	0.86

제 2 절. MC3T3-E1 세포 증식

나노메시가 형성된 표면에 MC3T3-E1 세포 부착력 및 증식력에 관한 평가는 MTT 분석법을 통하여 관찰하였다. 처리되지 않은 표면과 나노메시가 형성된 표면을 실험그룹으로 사용하였고, 글라스와 세포배양용기를 대조그룹으로 사용하여 실험을 행하였다. 세포의 미토콘드리아 활성법과 직접연관이 있는 MTT 방법을 통해 조사하였다. MC3T3-E1 세포 생존율은 각각 1일, 3일, 5일 동안 배양하여 Fig. 6-8에 나타내었다. 초기의 생존율은 나노메시 표면이 높게 관찰되었으나, 시간이 증가할수록 대조군에 비하여 생존율이 감소하는 것을 관찰하였다.

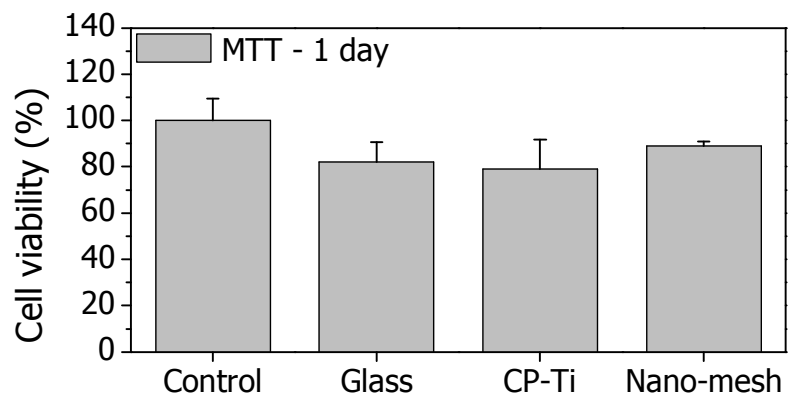


Fig. 6. The results of MTT assay for MC3T3-E1 seeded on different surface for 1 day.

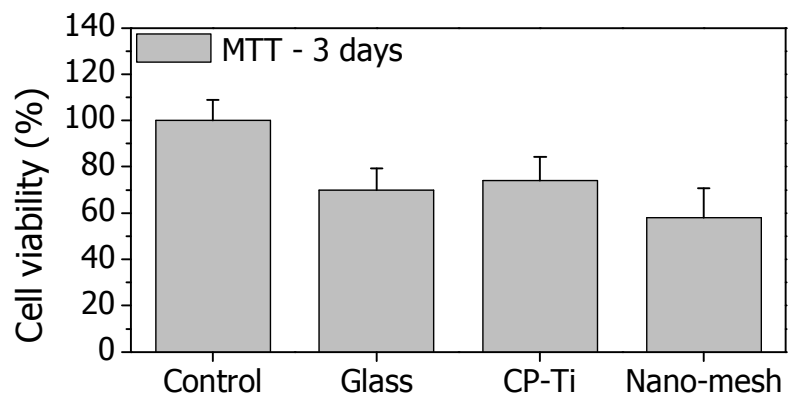


Fig. 7. The results of MTT assay for MC3T3-E1 seeded on different surface for 3 days.

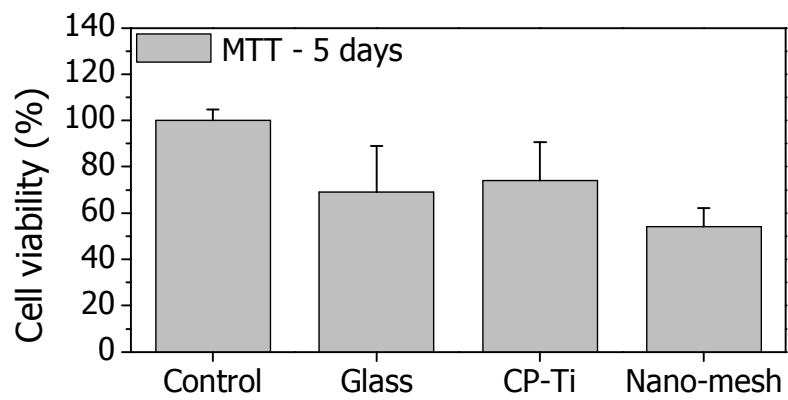


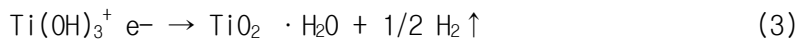
Fig. 8. The results of MTT assay for MC3T3-E1 seeded on different surface for 5 days.

제 4 장 고찰

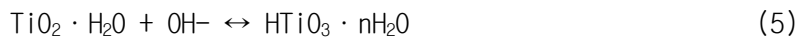
알칼리 처리 시 TiO_2 층은 부분적으로 수산기에 의한 작용 때문에 알칼리 용액에 의해 분해된다.



이 반응은 티타늄의 수화작용으로 자발적으로 일어난다.



수화된 TiO_2 는 수산작용에 의해 티타늄 표면에 다음과 같은 음으로 대전된 수화물을 형성하게 된다.



이렇게 음으로 대전된 시편은 수용액 내에서 알칼리 이온과 결합하여 sodium titanate hydrogel 층을 생성하며, 열처리 시 조밀화 된 hydrogel은 수산기가 떨어지고 안정한 비정질 또는 결정화된 sodium titanate 층을 형성한다²⁴⁾.

체외실험연구에서 티타늄표면형상은 조골모 세포의 분화, 증식, 부착과 같은 세포-생체재료 상호반응의 각각의 단계에 영향을 미친다고 제시하였다.^{13,14)} Popat 등은 인산과 플루오르 혼합용액으로 양극산화처리를 통하여 제조된 나노튜브구조를 갖는 TiO_2 구조가 우수한 생체적합성을 갖는 것으로 보고되어²⁵⁾ 표면의 나노구조가 생체적합성에 미치는 영향이 많이 연구되어 지고 있다. 결과에서 나타난 것처럼, 나노메시 구조는 세포부착에 적합한 친수성을 나타내었고, MTT 1일차의 결과에서도 대조군과 비교하여 높은 세포생존

을 나타내었으나, 시간이 지날수록 세포생존율이 감소하는 것으로 나타났다. 이는 80℃의 증류수에서 24시간 세척 후에도 표면에 잔류해 있는 Na이온의 영향으로 사료되며, 이는 다른 문헌에서도 관찰되었다.²⁶⁾

제 5 장 결론

알칼리 표면처리된 티타늄은 나노구조의 그물망 구조의 친수성을 갖는 표면이 형성되었다. MC3T3-E1 세포들의 증식이 대조군에 비하여 초기에는 증가하나, 시간이 지날수록 감소되었으며, 이러한 현상의 이유는 표면에 잔류하여 있는 Na 이온의 영향이라 사료된다. 향후 나노메시 형태가 세포증식에 미치는 영향에 대하여 더욱더 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- [1] Abrahamsson I, Zitzmann NU, Berglundh T, Wennerberg A, Lindhe J. Bone and soft tissue integration to titanium implants with different surface topography: an experimental study in the dog. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16:323-32.
- [2] Olmedo D, Fernandez MM, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Macrophages related to dental implant failure. *Implant Dent* 2003;12:75-80.
- [3] Rosa AL, Beloti MM. Rat bone marrow cell response to titanium and titanium alloy with different surface roughness. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:43-8.
- [4] Chiapasco M, Gatti C. Implant-retained mandibular overdentures with immediate loading: a 3- to 8-year prospective study on 328 implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003;5:29-38.
- [5] Huang HH. Electrochemical impedance spectroscopy study of strained titanium in fluoride media. *Electrochim Acta* 2002;47:2311-8.
- [6] Huang HH. Effects of fluoride concentration and elastic tensile strain on the corrosion resistance of commercially pure titanium. *Biomaterials* 2002;23:59-63.
- [7] Tschernitschek H, Borchers L, Geurtsen W. Nonalloyed titanium as a bioinert metal-.a review. *Quintessence Int* 2005;36:523-30.
- [8] Groessner-Schreiber B, Hannig M, Duck A, Griepentrog M, Wenderoth DF. Do different implant surfaces exposed in the oral cavity of humans show different biofilm compositions and activities? *Eur J Oral Sci* 2004;112:516-22.
- [9] Jungner M, Lundqvist P, Lundgren S. Oxidized titanium implants (Nobel Biocare® TiUnite™) compared with turned titanium implants (Nobel Biocare® mark III™) with respect to implant failure in a group of consecutive patients treated with early functional loading

- and two-stage protocol. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:308-12.
- [10] Ganeles J, Zollner A, Jackowski J, Ten Bruggenkate C, Beagle J, Guerra F. Immediate and early loading of Straumann implants with a chemically modified surface (SLActive) in the posterior mandible and maxilla: 1-year results from a prospective multicenter study. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:1119-28.
- [11] Yamamichi N, Itose T, Neiva R, Wang HL. Long-term evaluation of implant survival in augmented sinuses: A case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28:163-9.
- [12] Bugea C, Luongo R, Di Iorio D, Cocchetto R, Celletti R. Bone contact around osseointegrated implants: Histologic analysis of a dual-acid-etched surface implant in a diabetic patient. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28:145-51.
- [13] Assad M, Chernyshov A, Leroux MA, Rivard CH. A new porous titanium-nickel alloy, Part 1: Cytotoxicity and genotoxicity evaluation. *Bio-Med Mater Eng* 2002;12:225-37.
- [14] Kim HM, Kokubo T, Fujibayashi S, Nishiguchi S, Nakamura T. Bioactive macroporous titanium surface layer on titanium substrate. *J Biomed Mater Res* 2000;52:553-7.
- [15] Nishiguchi S, Fujibayashi S, Kim HM, Kokubo T, Nakamura T. Biology of alkali-and heat-treated titanium implants. *J Biomed Mater Res* 2003;67A:26-35.
- [16] Fujibayashi S, Neo M, Kim HM, Kokubo T, Nakamura T. Osteoinduction of porous bioactive titanium metal. *Biomaterials* 2004;25:443-50.
- [17] Zhu X, Ong JL, Kim S, Kim K. Surface characteristics and structure of anodic oxide films containing Ca and P on a titanium implant material. *J Biomed Mater Res* 2002;60:333-8.
- [18] Rosenberg R, Starosvetsky D, Gotman I. Surface modification of a low modulus Ti-.Nb alloy for use in medical implants. *J Mater Sci Lett* 2003;1:29-32.

- [19] Huang HH, Pan SJ, Lu FH. Surface electrochemical impedance in situ monitoring of cell-cultured titanium with a nano-network surface layer. *Scripta Mater* 2005;53: 1037-42.
- [20] Bauer S, Kleber S, Schmuki P. TiO₂ nanotubes: tailoring the geometry in H₃PO₄/HF electrolytes. *Electrochem Commun* 2006;8:1321-5.
- [21] Ghicov A, Macak JM, Tsuchiya H, Kunze J, Haeublein V, Frey L, et al. Ion implantation and annealing for an efficient N-doping of TiO₂ nanotubes. *Nano Lett* 2006;6: 1080-2.
- [22] Valiev RZ, Semenova IP, Latysh VV, Rack H, Lowe TC, Petruzelka J, et al. Nanostructured titanium for biomedical applications. *Adv Eng Mater* 2008;10:B15-7.
- [23] Zeggel P, Bioactive calcium phosphate coatings for dental implant: a Sumarizing characterization of B0INT-FBR. *Int Mag Oral Implantol* 2000; 1:52.
- [24] Kim HM, Miyaji F, Kokubo T, Nakamura T. Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment. *J Biomed Mater Res* 1996; 32:409.
- [25] Popat KC, Leoni L, Grimes CA, Desai TA, Influence of engineered titania nanotubular surfaces on bone cells. *Biomaterials* 2007;28:3188-3197.
- [26] Wei D, Zhou Y, Yang C, The composite films of gradient TiO₂-based/nano-scale hydrophilic sodium titanate: Biomimetic apatite induciton and cell response. *Surf Coat Tech* 2009; 204:372-379.

저작물 이용 허락서

학 과	치의학	학 번	20087516	과 정	석사
성 명	한글: 이 병 진 한문: 李 炳 辰 영문: Lee Byung Jin				
주 소	충남 예산군 예산읍 발연리 85-4 GM빌딩 4층 하얀치과				
연락처	011-9824-8919	E-MAIL	wdccaptain@hanmail.net		
논문제목	한글: 티타늄 표면처리에 따른 조골모세포 증식에 관한 연구				
	영어: Study on Proliferation of Osteoblast cell with Titanium Surface Treatment				

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 11 월 일

저작자: 이 병 진 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하