나노구조 표면에 관한 문헌고찰

[1]강릉원주대학교 치과대학 보철학교실 및 구강과학연구소
[2]강릉아산병원 보철과

박고운[1] · 차민상[2] · 김대곤[1] · 박찬진[1] · 조리라[1]

티타늄 산화막을 나노단위에서 변형시키는 방법은 다공성 표면을 강화하는 내부적 접근과 나노입자를 피복하는 외부적 접근으로 나눌 수 있다. 나노표면은 나노튜브, 나노피트, 나노노듈 및 다형구조 등 다양한 형태를 지닌다. 형성방법 및 형성재료에 따라 다른 표면이 생성되지만, 현재까지 표준화된 형성방법은 없다. 나노표면을 분석해 보면 마이크론 단위의 표면구조에는 영향을 미치지 않으며 전기화학적으로 안정적이다. 나노표면은 세포독성이 거의 없으며 조골세포의 증식과 분화를 모두 촉진하고, 섬유모세포의 증식을 저해하여 연조직 개재를 감소시키는 효과를 가진다. 또한 세포 및 단백질과 유사한 크기 및 형태를 가지기 때문에 조직과의 친화성이 우수하여 골유착을 증진시킨다. 하지만 그 작용이 미치는 범위는 극히 제한되어 있기 때문에 골조직과의 거리가 있는 경우에는 효과가 미미하다. 마이크론 단위의 표면과는 달리 나노표면은 광촉매효과로 인한 항균작용을 가지지만 지속시간이 짧아 실제 임상에서의 적용효과는 의문시 된다. 하지만 마이크론 단위의 표면거칠기가 가지는 단점을 배제할 수 있어 다양한 가능성을 가지기 때문에 더 많은 연구가 필요하다.

주요어: 나노표면, 세포반응, 광촉매효과, 골유착 (**구강회복응용과학지** 2013:29(2):141~151)

서 론

임플란트의 재료로 가장 일반적으로 사용되는 티타늄은 공기나 수분에 노출되는 즉시 표면에 3~17 nm 두께의 산화막(티타니아)이 형성된다. 이러한 산화막은 금속표면에서 부식이 진행되는 것을 방해하기 때문에 티타늄 금속은 높은 부식저항성을 가질 수 있다. 또한 티타니아는 골조직에 식립된 임플란트가 생체와 직접 접촉하는 부위로 임플란트의 물성을 개선하기 위해 표면처리를 시행하는 주된 부위이므로 티타니아의 물리·화학적 특성을 조절하고 규명하는 것은 임플란트 표면처리의 기초기술이 된다고 볼 수 있다. 하지만 자연적으로 형성된 티타니아의 두께는 너무 얇고 조성이 불균질하여 생체적합성에 문제가 생길 가능성이 있어 다양한 기계적, 화학적 처리를 통해 산화막 두께를 인위적으로 증가시킬 필요가 있다.[1]

이러한 티타니아의 개질방법은 나노미터 수준에서 이루어지기 때문에 나노표면(nanosurface)이라고 칭한다.

마이크론 단위의 표면형상에 대한 생물학적 반응은 잘 알려져 있는데, 적정 표면거칠기가 조골세포의 부착성 증가 및 분화를 촉진하고 세포

교신저자: **조리라**
강릉원주대학교 치과대학 치과보철학교실,
강원도 강릉시 강릉대학로 1번지, 210-702, 대한민국.
Fax: + 82-33-640-3103, E-mail: lila@gwnu.ac.kr
원고접수일: 2013년 3월10일, 원고수정일: 2013년 4월 20일, 원고채택일: 2013년 6월 25일

외 기질의 형성과 광화를 증가시켜 빠른 골유착 반응을 제공할 수 있도록 임플란트의 표면적을 증가시킴으로써 기계적 결합력을 강화할 수 있었다. 하지만 과도한 표면거칠기는 기저금속 이온들의 용출을 증가시킬 뿐 아니라 치주염이 발생할 위험성도 배제할 수 없어 적절한 임플란트 표면거칠기를 추구하게 되었고 이는 대략 1~2㎛으로 알려져 있다.[1] 하지만 같은 마이크론 단위의 표면거칠기를 가지고 있다고 하더라도 나노수준에서 다른 표면형상을 가지는 경우 다른 생물학적 결과를 이끌어낼 수 있다는 결과가 속속 발표되면서 나노표면에 대한 관심이 증가하고 있다. 즉, 1~100nm 정도의 표면거칠기는 단백질 및 조골세포의 부착과 밀접한 관련이 있어 골유착에 중요한 역할을 할 수 있다는 것이다.[2] 또한 나노구조를 가지게 되면 표면적이 증가함으로써 약물이나 성장인자를 효율적으로 전달할 수도 있으며 나노구조에 의해 임플란트의 탄성계수가 감소함에 따라 골과 임플란트 계면에서 탄성계수의 부조화를 완화시킴으로써 결과적으로 골유착 향상에 기여할 수도 있다 (Fig. 1).[2]

이와 같이 많은 가능성을 가진 나노표면에 대해 형성방법, 표면특성을 살펴보고 in vitro, in vivo 반응을 살펴봄으로써 이러한 표면처리의 가능성과 한계를 고찰하고자 하였다.

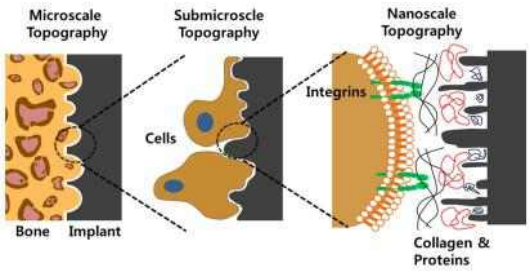

Fig. 1. Interactions between bone and the implant surface at different topographical scales.

나노표면에 대한 문헌고찰

1. 나노표면 형성

나노표면은 나노수준의 표면거칠기를 내부적으로 부여하는 방법과 나노입자를 외부적으로 코팅하는 방법으로 만들 수 있다. 나노단위의 표면거칠기를 내부적으로 만드는 방법으로는 전기화학적 방법(양극산화법), 블라스팅이나 화학적 산부식, 가열 및 염기 성형을 이용하여 기계적으로 나노표면을 식각하는 방법이 있다. 양극산화를 이용한 나노표면 형성법은 전해질 내에서 시편에 조절된 전압을 가함으로써 산화막의 절연파괴와 함께 용해된 티타늄이 쌓이면서 다공성으로 개질된 표면을 얻을 수 있다. 양극산화법을 이용하면 티타늄 나노튜브, 나노패턴과 같은 정형화된 나노구조물을 형성할 수 있다. 블라스팅 방법은 다양한 범주의 거칠기를 보다 쉽게 구현 가능하지만 블라스팅할 때 표면에 박힌 입자를 제거하기 위한 세척과정을 거쳐야 하며 잔존입자의 용출로 인한 골유착 방해나 표면의 불균일성으로 인한 부식위험성이 여전히 존재하고 균질한 표면을 얻기에도 제한이 있다.

나노입자를 임플란트 표면에 외부적으로 피복(coating)하는 방법의 대표적인 예가 수산화인회석(hydroxyapatite, HA)을 임플란트 표면에 피복하는 것이다. HA피복법은 다양한 방법이 이용되어 왔는데 가장 쉬운 침적법(dip-coating)이나 소결법(sintering)부터 전기화학적 피복법인 플라즈마 스프레이, 레이저침적, 이온빔주입법, 정전기적 스프레이법 등 다양한 방법이 시도되었다 (Table Ⅰ). 하지만 대부분의 HA피복법은 피복된 HA의 불안정한 결정상태와 조성으로 인해 기저금속과 박막 사이에 잔류응력을 남기면서 낮은 접착력을 보여 피복막이 박리되는 불안정성을 노출해 왔다.[3] 하지만 나노피복기술의 발달로 HA를 나노영역의 얇고 안정된 박막으로 코팅할 수 있게 되었다. 이렇게 피복된 인산칼슘은 나노미터 두께의 HA 결정들이 서로 결합되어 생체내의 HA와 유

Table Ⅰ. Various hydroxyapatite (HA) coating methods

Method	Formation	Characteristics
Dip coating	High temperature	Low bond strength, HA impurity
Electrophoretic deposition	Charged particles in a colloid	Non-uniform thickness
Immersion coating	High temperature	Lowest bond strength
Solution deposition	Low temperature precipitation	Adequate bond strength, Thin film formation
Thermal spraying	Traditional technique	Good bond strength Moderate bond strength
Sputter coating	Slow formation rate	Line-of sight limitation

사한 카보네이트아파타이트를 형성함으로써 골과 유사한 성질 및 생흡수성(bioresorbability)을 가지게 되었고, 이는 생체 내에서 장시간에 걸쳐 분해되기 때문에 주변에 골이 재생될 수 있는 환경을 조절하여 골재생 및 광화작용을 촉진하고 결국 신생골로 대체되어질 수 있음을 의미한다. 따라서 기저금속과 강한 결합을 이루지 않더라도 코팅막이 박리는 되지 않아 불안정성을 줄일 수 있게 되었다. 하지만 실험실 혹은 제조회사마다 보유하고 있는 나노표면 제조기술이 달라서, 보다 재현성 있는 나노수준의 표면 구현과 가장 적절한 크기의 나노 거칠기를 규명하기 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

2. 나노표면의 특성

일반적으로 양극산화에 의한 나노튜브 형성은 전압, 전해질 농도, 양극산화 시간 및 온도에 따라 달라지게 되는데, 한 예로 전압을 조절하여 결정구조를 변환할 수 있다. 즉, 낮은 전압을 가하면 비정질의 결정구조를 가지게 되지만 전압이 높아질수록 형성된 나노튜브는 견고한 결정구조를 가지게 된다. 이러한 결정질의 구조는 생체 내에서 골광화 및 생체친화성에 영향을 미칠 수 있다. 또한 양극산화온도가 높아지게 되면 나노구조의 크기와 나노층의 두께가 증가한다(Fig. 2).

Kim 등[4]은 절삭된 표면과 RBM(resorbable blasting media) 표면에 양극산화법으로 나노튜브

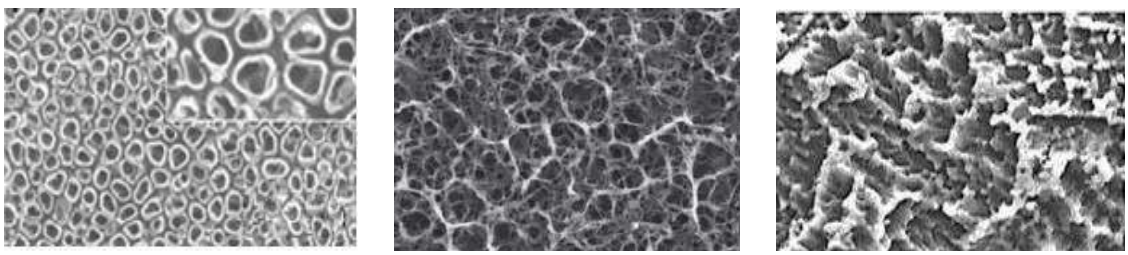

Fig. 2. Various nano-structures; nanotube (left),[4] nanomesh (medium),[7] nanonodule (right)[9].

를 형성하여 표면을 관찰하였다. 표면거칠기는 변함이 없었으나 초고배율로 관찰 시 나노튜브가 양쪽 표면에 형성된 것을 확인할 수 있었는데 나노튜브의 길이는 500 nm 이하, 직경은 100 nm 정도이며 측벽에 의해 서로 연결된 형상을 보이고 있다고 하였다. 나노튜브의 주성분은 티타니아이지만 미세량의 탄소, 산소, 티타늄 및 미량의 불소가 검출되었는데 이는 전해액에 포함된 불소성분이 티타니아를 용해시키면서 양극산화의 첫 반응이 시작되기 때문이다. 이런 미세량의 불소는 골모세포의 분화 (in vitro)와 표면의 골형성 (in vivo)에 잠재적 영향을 줄 수 있다. 또한 나노튜브를 형성하면 물과의 접촉각이 감소하여 친수성이 증가하는 경향을 보이며 티타늄 모재의 탄성계수도 감소하는 결과를 나타낸다. 탄성계수의 감소는 나노튜브의 다공성과 밀도로 인한 결과이며 탄성계수가 감소했다고 하더라도 골과 유사한 탄성계수를 나타내기 때문에 내구성에 미치는 영향은 작을 것으로 추정할 수 있다. 오히려 탄성계수가 작아지면서 티타늄과 골의 탄성계수 차이에 의해 임플란트와 골계면에 응력이 전달되지 않아 주변골 괴사가 발생하는 “stress-shield” 현상을 방지할 수 있다. Cui 등[5]은 주사전자현미경으로 나노튜브의 내부를 관찰한 결과 내벽은 깨끗하며 다른 부착물은 보이지 않는다고 하였다. Demetrescu 등[6]은 인공타액 내에서 나노튜브구조의 부식률이 티타니아 표면에 비해 1/35로 줄어들어 전기화학적으로 안정적인 결과를 보인다고 하였다. 이상의 결과를 종합하면 양극산화로 형성한 나노튜브 표면은 규칙적인 패턴을 가지고 친수성이며 탄성계수를 감소시키고 부식저항성을 증가시키는 등 다양한 측면에서 향상된 물성을 가짐을 알 수 있다.

Huang 등[7]은 양극산화법으로 생성된 나노매쉬 구조에 대해 분석하였다. 나노매쉬구조는 고배율로 확대했을 때 산부식된 표면과 유사한 양상을 보인다. 형태는 나노튜브에 비해 비정형적이며 양극산화 온도를 높일수록 무질서한 구조를 가지는 나노매쉬가 생기며 매쉬크기와 나노층의 두께가 증가하는 경향을 보였는데 매쉬 사이의 공극도 증가하면서 혈액반응에 유리하다는 결과를 발표하였다.

황산과 과산화수소 수용액 혼합물로 화학적 부식처리하여 얻은 나노피트(nanopit)에 대한 Bueno 등[8]의 연구에 따르면 나노피트 사이의 연결구조가 관찰되는데 이러한 구조는 부식처리시간에 따라 달라진다고 하였다. 나노노듈(nanonodule)은 평균거칠기가 200nm 정도이며 잘 구획된 경우를 말하는데, Hori 등[9]은 스퍼터(sputter)침착법을 이용하여 나노노듈을 만들었다. 형성된 나노노듈은 광화 기질과 유사한 구상형의 표면을 가지는데 이는 칼슘 결합에 도움을 준다고 알려진 단백질(osteopontin, osteocalcin)이 부착되는데 유리한 환경을 조성할 것으로 추정할 수 있다. 효과적인 나노노듈의 크기도 언급하였는데 나노노듈이 500nm 이상인 경우 오히려 마이크론 단위의 표면조성 사이의 공간을 메우게 되어 표면적과 언더컷, 미세구조의 감소를 가져기 때문에 200nm 정도의 크기가 표면적을 증가시키고 언더컷을 생성한다고 주장하였다.[9]

단일 나노구조가 아닌 하이브리드 나노구조에 대한 연구도 발표되었다. Ueno 등[10]은 알칼리 및 열처리기법을 이용하여 다형구조의 나노표면을 만들었는데 주사전자현미경으로 관찰 시 다양한 크기의 나노노듈과 함께 판형, 상자형 등 다양한 형태를 가진 구조물이 생성되었고 표면의 형태뿐 아니라 거칠기, 표면적 및 다형구조들 사이의 공간도 불균일하다고 하였다. 다형구조에 의한 표면적증가효과는 생각보다 크지는 않아서 2-3배 정도만 증가하며 다형구조의 나노표면을 화학적으로 분석하면 표면층의 산소가 뚜렷하게 증가한다고 하였다.[10]

다양한 표면처리법을 이용하여 나노구조를 코팅한 표면에 대한 연구도 다양하게 발표되었다. Kloss 등[11]은 변형된 가열-필라멘트 화학적 진공흡착법(chemical vapor deposition, CVD)으로 나노결정다이아몬드필름(nano-crystaline diamond (NCD) coating)을 형성할 수 있다고 하였다. 이런

피막은 15nm의 평균 두께를 가지지만 세균부착을 증가시킬 수 있는 표면의 마이크론 거칠기를 증가시키지 않고 나노입자를 피복할 수 있는 장점을 가지게 된다. 또, 표면 탄소원자의 불포화 공유결합을 이루고 있는 수소를 산소로 치환시켜 소수성의 표면을 친수성으로 변환시킴으로써 조직의 치유반응에 유리한 환경을 조성할 수도 있다. Mozumder 등[12]은 플라즈마 진공 흡착법(plasma vapor deposition, PVD)을 이용하여 티타늄 나노입자를 폴리머 위에 적용하는 방법으로 나노크기의 표면특성과 거칠기, 적절한 젖음성을 가지도록 만들 수 있다고 하였다. Fröjd 등[13]은 졸-겔(sol-gel)법으로 얻어진 다공성 티타니아 나노층이 등방성 표면구조를 가지는 것을 관찰하였다. 피복에 의해 형성된 나노구조는 100nm 정도의 두께였다.

Meirelles 등[14]은 나노구조의 칼슘포스페이트 혹은 HA 피복에 대해 연구하였는데, 나노HA피복을 통해 비슷한 표면거칠기를 가지면서도 표면적율과 기공(pore)의 수는 증가한다고 하였다. Cheng 등[15]도 전기화학적 피복법으로 HA를 얇게 피복함으로써 표면에 대한 기존 HA 피복법보다 부착능력이 향상된 피막을 얻어 표면공극으로의 골성장을 강화시킬 뿐 아니라 표면로부터 금속이온이 방출되는 것도 막을 수 있다고 하였다. 이 때 사용한 전기화학적 피복법은 피막조성에 대한 성분을 효율적으로 제어할 수 있으며, 상대적으로 낮은 가공온도를 이용하기 때문에 낮은 잔류응력을 가지는 결정상을 만들 수 있다. Huang 등[16]도 전기화학적 피복법의 일종인 electrohydrodynamic atomization (EHDA)를 이용하여 나노티타니아HA 구조를 얻었는데 그 입자의 직경이나 길이가 일반적인 나노티타니아구조보다 1.5배 정도 증가하며 적용범위도 더 넓다고 하였다.

이상에서 살펴 본 바와 같이 각 실험실마다 다양한 방법을 이용하여 나노구조를 얻을 수 있을 뿐 아니라 같은 형성방법이라 할지라도 조건에 따라 생성되는 표면의 형태나 성상이 달라진다. 사용하는 표면처리방법은 완전히 새로운 표면처리방식이라기 보다는 기존의 표면처리 방식을 조금씩 변형시킨 방법이며, 표면에 대한 분석이 보다 정밀해지면서 이전에는 같은 표면특성을 가졌다고 생각했던 표면이 나노단위에서 다른 형태와 성상을 가지고 있는 것을 파악하게 되었다고 할 수 있다. 또한 나노구조가 각광받으면서 다양한 표면처리법이 제시될 가능성이 높지만 나노단위에서의 표면을 얻기 위한 방법을 범주화하고 분류하여 그 표면이 가지는 특성에 대해 이해하는 것이 필요하다고 생각된다.

3. 나노표면에 대한 세포반응

마이크론 단위의 표면거칠기는 파골세포에 의해 흡수된 공간이나 조골세포의 크기와 비슷한 특징적인 사이즈를 가지기 때문에 조골세포의 분화를 촉진하고, 국소적 인자생성에 기여함으로써 골유착을 촉진한다는 것은 널리 알려져 있다. 임플란트 주위 골반응을 조절함에 있어 골조직 생성을 촉진시키면서 치유기간도 줄여 초기하중 감당능력을 증가시키고자 하는 요구도 있지만 충분한 양의 골을 빠르게 생성하기 위해 조골세포의 증식과 기능적 성숙(세포분화)을 동시에 이루어야 하는 어려움이 있다. 마이크론 단위의 표면거칠기는 조골세포의 증식을 촉진시켜 골생성의 시작을 앞당기기는 하지만, 조골세포의 분화를 억제시킴으로써 생성된 골량은 더 작아지게 되는 결과를 초래한다.[17,18] 반면, 나노 단위의 거칠기를 표면에 도입하게 되면 나노 단위의 거칠기가 단백질, 세포막 수용체의 크기와 직접적인 연관을 가지므로 조골세포의 분화 및 조직재생에 중요한 역할을 할 수 있다는 사실이 발표되고 있다. 하지만 이러한 세포반응도 생성된 표면특성이나 사용하는 세포특성 및 상호작용에 따라 다른 결과를 나타낼 수 있다.

나노표면의 세포독성을 연구한 Huang 등[16]과 염증반응을 연구한 Kloss 등[11]의 연구에 의하면 나노단위의 거칠기는 특별한 독성이나 염증을

유발하지는 않으면서 세포부착은 증가시킨다고 한다. 또 나노튜브를 이용한 Demetrescu 등[6]의 세포독성 연구에서도 이와 유사한 결과를 나타내었다. 비록 생체연구를 통해 더 규명되어야 하지만, 나노단위의 표면거칠기는 마이크론 단위의 표면거칠기와는 달리 도입에 의한 나쁜 영향은 드물 것으로 예상할 수 있다. Hori 등[9]은 나노노듈을 가진 표면에서 조골세포의 부착과 증식을 연구하여 세포부착이 3배 이상 증가할 뿐 아니라 세포분화도 더 활발하다는 결과를 발표하였다. 즉, 조골세포의 초기분화 표지자인 alkaline phosphatase와 중간단계 표지자인 osteopontin, 후기분화의 표지자인 osteocalcin 등 모든 분화표지자의 활성이 나노표면에서 증가한다고 하였다.[9] 하지만 표면이 달라지면 다른 영향이 나타난다는 연구결과도 있다. 나노단위의 표면이 세포의 성장과 분화에 미치는 영향에 관해 연구한 Gittens 등[2]의 논문에 따르면 나노표면에서 alkaline phosphatase의 활성도는 감소하는 반면 osteocalcin은 증가한다고 하였다. 이는 나노표면이 조골세포 분화의 후기에 주로 작용한다는 결과로 해석할 수 있다. Bueno 등[8]은 나노피트를 가진 표면에서 세포외기질의 광화와 결정성장에 기여하는 osteopontin이 증가한다고 하였다. 또한 Huang 등[16]은 CVD로 형성한 HA함유티타늄 나노필름코팅이 조골세포의 증식에는 기여했으나 분화에 대한 영향은 크지 않았다고 밝혔다. 이상과 같이 세포부착과 세포분화에 대한 연구의 결과가 나노표면의 종류에 따라 다르게 나타날 뿐 아니라 세포반응의 차이도 마이크론 단위의 표면에 비해 엄청난 차이를 보이는 것은 아니어서 다양한 세포반응에 대한 결과는 주의깊게 해석하는 것이 필요하다.

나노표면에 대한 줄기세포 연구도 진행되었는데 Dalby 등[19]의 연구에 의하면 나노표면은 조직에 존재하는 줄기세포의 분화에 중요한 역할을 할 수 있는데 특히 나노표면에 약물 혹은 유전자 전달물질을 추가함으로써 화학적 자극이나 화학구성물질의 양상이 변화하여 줄기세포의 분화에 작용하는 환경이 변화되기 때문에 줄기세포의 분화정도를 조절할 수 있다고 하였다. 중간엽줄기세포를 이용한 Mozumder 등[12]의 연구에서도 나노티타니아필름이 형성된 표면이 단백질 친화적인 나노단위의 거칠기와 친수성을 가지기 때문에 세포부착, 증식, 대사활동이 모두 증가되는 좋은 결과를 나타낸다고 하였다.

티타늄 표면에서 혈장이 응고되는 성질은 골형성에 중요한 역할을 한다. 이것은 혈소판이 혈액의 응고와 성장인자 분비에 관여하여 임플란트에 대한 골유착도 촉진시킬 수 있기 때문이다. 혈액의 응고와 혈소판 활성화는 순차적으로 세포와 골 성장에 영향을 미치며 임플란트 표면에 대한 세포-표면 상호작용 및 혈액-표면의 초기반응이 활성화될수록 골유착에 유리한 영향을 줄 수 있다. 표면에 대한 혈액반응을 연구한 결과는 흔치 않은데, 이는 그 결과도 다양하고 해석에도 상당한 어려움이 있기 때문이다. 양극산화법을 이용한 나노튜브표면에 대한 혈액반응이 Huang 등[7]에 의해 발표되었는데, 나노튜브를 가진 표면에서 혈액응고형성능력도 우수하며 혈소판 점착도 증가한다고 하였다. 하지만 통계적으로 유의한 차이를 밝히지는 못했으며 정성적인 분석이 주여서 혈액에 대한 확연한 반응이라고 하기에는 무리가 있다. 나노표면에 대한 혈액반응도 좀 더 많은 연구가 필요한 것으로 사료된다.

4. 나노표면에 대한 생체반응

어떤 독창적인 표면이라 해도 세포반응만으로 생체 내에서도 우수한 성능을 보일 것이라고 예단하기는 어렵다. 그렇기 때문에 다양한 실험동물을 이용하여 생활성을 입증해 보여야 한다. 마이크론 단위의 표면거칠기에 대한 논문은 매우 풍부하고 다양한 조건들이 실험되었지만 나노표면에 대한 생체반응 연구는 최근에야 발표되고 있는 실정이다.

Li 등[20]은 나노튜브를 가진 임플란트를 쥐에 식립하여 골유착 초기단계에 대한 영향을 평가

하였다. 마이크론 단위의 표면에 비해 나노튜브 표면의 골-임플란트 접촉률 및 인장력이 유의하게 높아서 나노튜브 표면이 초기 골유착을 증진시키는 역할을 담당할 수 있다고 하였다.[20] 이렇게 생활성을 나타내는 이유는 나노구조로 인한 표면조성 때문이기도 하지만, 표면처리 시 쓰인 불산의 효과가 일부 작용할 것이라고 추정하였는데, 티타늄이 불소이온과 반응하여 TiF_4를 형성하여 신생골과 임플란트 표면간의 화학적 결합을 이루는 데 중요한 역할을 하기 때문이라는 기전을 제시하였다.[20] 하지만 불산에칭으로 형성된 마이크론 단위 표면에서의 효과는 제한적이었으므로 불소의 역할을 과대평가하면 안 될 것이다. 이런 결과와 반대되는 연구도 있다. Sparague- Dawley 쥐에 나노다형성구조의 실린더를 이식한 Ueno 등[10]의 연구에서는 나노표면에 생성된 골조직의 골질이 우수할 뿐 아니라 골-임플란트 접촉률도 2배 증가하지만 골량에서는 큰 차이가 없기 때문에 골형성 능력 및 골유착 촉진효과는 임플란트와 가까운 골조직에서 뚜렷한 반면, 거리가 먼 조직에서는 그 효과가 미비하기 때문에 조기하중부담 능력에는 큰 역할을 하지 못할 것이라고 전망하였다. 하지만 연조직접촉률이 나노표면에서 1/2~1/4로 줄어든다는 결과로 짐작해 보면 적절한 초기고정력이 보장되는 조건에서는 나노표면이 가지는 골유착촉진효과가 극대화될 것으로 유추할 수 있다. Cheng 등[15]도 난소를 적출한 쥐를 대상으로 얇은 나노HA피복이 골반응에 미치는 영향을 조사하였는데, 골-임플란트 접촉률과 골면적 및 제거력이 모두 우수한 결과를 나타내어 나노표면이 골침착량 증가 및 임플란트 표면 공극으로의 골성장 강화를 유도할 뿐 아니라 임플란트로부터의 금속이온 방출로부터 골조직을 보호할 수 있는 피막으로 작용한다고 하였다. Meirelles 등[14]은 토끼 경골에서의 임플란트 직경보다 훨씬 넓게 골삭제를 하고 나노HA 임플란트를 식립하여 골반응을 비교하였는데, HA의 높은 골유도성에도 불구하고 실험에 쓰인 임플란트의 평활도와 조직간의 거리로 인해 HA의 효과가 미미하게 나타나 골-임플란트 접촉률이 크게 다르지 않다고 하였다. 즉, 골과 HA의 간격이 100㎛ 이상인 경우 나노표면의 효과는 거의 없다는 것이 또 한 번 입증된 것이다. 그러므로 생체 내에서의 나노표면의 효과는 일차적인 임플란트의 안정성과 마이크론 단위의 거칠기를 가진 기존 성질을 배제하고서는 제대로 발휘될 수 없다는 것을 알 수 있다.

5. 나노표면에 대한 세균반응

구강점막은 타액과 치은열구액으로부터 유래한 단백질막과 당단백으로 이루어져 있으며 미생물도 함께 존재하기 때문에 임플란트 표면에 세균막이 형성되면 임플란트의 실패 위험성을 증가시키는 요인이 된다. 생활성을 가지는 대부분의 표면이 세균에 대해서도 반응성이 커서 임플란트 주위염을 유발할 가능성도 커진다. 하지만 나노표면 특히 anatase 결정구조의 티타니아 광촉매는 광화학반응으로 미생물에 대한 살균작용을 가진다는 사실이 알려지면서 오히려 임플란트 표면에 대한 오염을 제거할 수 있는 가능성을 보여주고 있다 (Fig. 3).

Suketa 등[21]은 임플란트 주위염과 연관된 그람 음성 혐기성 균 (*Actinobacillus actinomycetem*

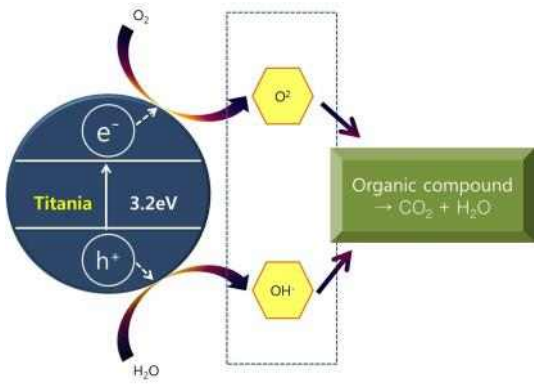

Fig. 3. Antibacterial mechanism of TiO_2 nanosurface

*comitans*와 *Fusobacterium nucleatum*)에 대한 anatase 티타니아의 광촉매반응에 의한 살균효과를 평가하였다. 플라즈마침전법으로 광촉매성 anatase 티타니아막을 형성한 후 자외선을 조사한 다음 세균의 수를 측정하였다. 연구결과 120분 정도 자외선을 조사하면 세균의 생존률이 1% 미만으로 강력하게 억제된다고 하였다. 즉, 광촉매 작용에 의한 살균작용은 치과용 임플란트 표면의 오염을 멸균시키는데 매우 유용함을 알 수 있다. 단, 120분 이상의 자외선 조사는 생체 조직에 위해를 가할 수도 있으므로 새로운 방식의 자외선 조사법이 개발되어야 할 것이다. 양극산화를 통해 나노튜브를 생성하고 표면에 대한 주사전자현미경분석을 시행하여 광촉매 활성도와 *Streptococcus mutans*에 저항하기 위한 적절한 조건을 연구한 Cui 등[5]의 연구에서는 광촉매반응의 기전을 설명하였는데 이를 에너지밴드이론이라고 한다 (Fig. 4). 이 이론에 따르면 나노 티타니아는 전자전도체의 반도체산화물로 나노입자의 공간 제한으로 인해 전자의 에너지 수준이 불연속적이고 빈 에너지 공간은 반도체의 원자궤도 내에 존재하는 band gap (Eg)으로, 전도대와 가전자대 사이의 에너지 차이만큼의 절대값을 가지게 되는데 빛(자외선 혹은 가시광선)을 조사하면 가전자대의 전자는 전도대로 이동하고 공동(cavity)을 형성한다. 수용액의 물이 나노입자의 표면에 흡수되게 되면 표면의 공동이 물과 산소와 반응하게 되어 자유 수산화기(hydroxyl radical)를 생산하게 되는데, 자유 수산화기는 강력한 산화력으로 물 속 유기물을 분해하여 이산화탄소, 물 또는 비독성 물질로 변환시킨다. 즉, 티타니아 표면은 강력한 탈산력을 가지고 항균작용을 하게 되는 것이다. 하지만 안정된 상태에서 전자와 공동이 독립적으로 존재할 수 없어 시간이 지나면 대다수가 결합되고 이로 인해 광촉매반응이 저하되므로 광촉매 형성 후 24시간 내에서만 우수한 항균성을 가진다. 단, 광촉매반응에 의해 균의 성장을 억제할 뿐만 아니라 번식까지 억제하는 효과를 가지기 때문에 적어도 처리 후 48시간 내의 멸균작용만 기대해야 할 것으로 생각된다. Huang 등[16]은 나노티티니아HA 피복이 *Staphylococcus epidermidis*와 *Staphylococcus aureus*에 대한 살균성을 가진다고 하였다.

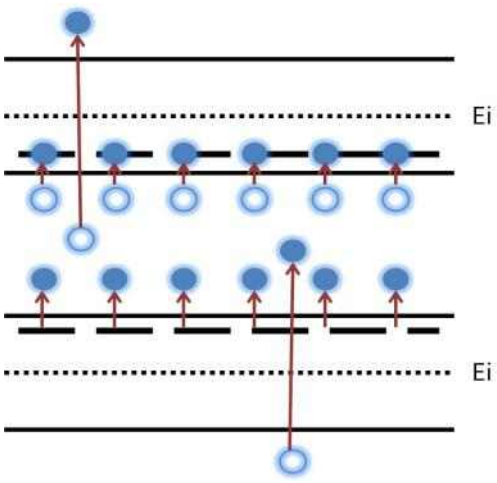

Fig. 4. Photocatalysis: energy-band theory.

하지만 나노표면이라도 세균의 성장은 유사하다는 연구도 있는데, 임플란트 세균막에 대한 초기부착세균인 *Streptococcus spp.*와 *Actinomyces naeslundii*를 이용하여 나노표면과 절삭표면 및 칼슘함유 표면에서의 세균막형성을 평가한 Fröjd[13]에 따르면 세균막의 부피가 칼슘함유 표면에서 가장 컸으며 절삭면과 나노표면은 비슷한 세균부착 및 세균성장을 나타낸다고 하였다.

다양한 나노표면 형성법 중 몇 가지 표면에 대해서만 세균반응이 확인되었을 뿐이고 광촉매효과는 이론적 배경에 비해 실제 적용에는 아직 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. 하지만 마이크론 단위의 거친 표면이 평활한 표면에 비해 치태침착을 증가시키는데 반해 나노처리된 표면은 마이크론 단위의 거칠기에는 영향을 주지 않기 때문에 적어도 세균반응을 증가시키지는 않을 것이라고 예상할 수 있다.

요 약

다양한 표면개질 방법을 변형시켜 나노단위의 표면을 만들 수 있는데 양극산화나 블라스팅처럼 표면의 원래 형태를 변형시키는 내부적 접근과 나노입자를 코팅하는 외부적 접근법이 있다. 양극산화법으로 나노튜브와 나노피트를 형성할 수 있으며, 침적법이나 피복법으로 나노노듈 및 다형구조를 만들 수 있다. 전압, 전류 등 형성조건에 따라 다른 표면이 생성되기 때문에 같은 이름을 가진 형성법이라도 전혀 다른 표면을 만들 수 있다. 나노표면변형은 일반적으로 표면거칠기를 변화시키지 않으며 전기화학적으로 안정적이다. 나노표면은 세포독성면에서 안전하며, 조골세포의 기능을 강화시키는 역할을 한다고 알려져 있다. 이러한 결과는 다양한 연구를 통해 입증되었다. 하지만 생체내 연구에서는 그 효과가 제한적으로 나타나는데 이는 표면의 단위가 매우 작아 영향을 미치는 범위가 제한되기 때문이다. 그럼에도 불구하고 표면거칠기에 따라 세균반응을 증진시킬 수 있는 마이크론 단위의 표면과는 달리 나노표면은 광촉매효과로 인한 항균작용을 가지는 것으로 알려지고 있어 표면의 임상적 적용에 대한 잠재적 가능성을 높이고 있다. 앞으로 생체연구가 더 활발해져서 실질적인 효과를 입증해야 안정적으로 적용이 가능할 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Song HJ. Advanced surface modification techniques for enhancing osseointegration of titanium implant. Journal of Korean dental association. 2010;48(2): 96-105.
2. Gittens RA, McLachlan T, Olivares-Navarrete R, Cai Y, Berner S, Tannenbaum R, Schwartz Z, Sandhage KH, Boyan BD. The effects of combined micron-/submicron-scale surface roughness and nanoscale features on cell proliferation and differentication. Biomaterials. 2011;32(13):3395-403.
3. Kim SJ, Park JM, Bae TS, Park EJ. Precalcification treatment of TiO2 nanotube on Ti-6Al-4V alloy. J Korean Acad Prosthodont. 2009;47:39-45
4. Kim HS, Yang Y, Koh JT, Lee KK, Lee DJ, Lee KM, Park SW. Fabrication and characterization of functionally graded nano-micro porous titanium surface by anodizing. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009;88(2):427-35.
5. Cui CX, Gao X, Qi YM, Liu SJ, Sun JB. Microstructure and antibacterial property of in situ TiO2 nanotube layers/titanium biocomposites. J Mech Behav Biomed Mater. 2012;8:178-83.
6. Demetrescu I, Pirvu C, Mitran V. Effect of nano-topographical features of Ti/TiO2 electrode surface on cell response and electrochemical stability in artificial saliva Bioelectrochemistry. 2010;79(1):122-9
7. Huang HH, Chen JY, Lin MC, Wang YT, Lee TL, Chen LK. Blood responses to titanium surface with TiO2 nano-mesh structure. Clin Oral Implants Res. 2012;23(3):379-83.
8. Bueno Rde B, Adachi P, Castro-Raucci LM, Rosa AL, Nanci A, Oliveira PT. Oxidative nanopatterning of titanium surfaces promotes production and extracellular accumulation of osteopontin. Braz Dent J. 2011;22(3):179-84.
9. Hori N, Iwasa F, Ueno T, Takeuchi K, Tsukimura N, Yamada M, Hattori M, Yamamoto A, Ogawa T. Selective cell affinity of biomimetic micro-nano-hybrid structured TiO2 overcomes the biological dilemma of osteoblasts. Dent Mater. 2010;26(4): 275-87.
10. Ueno T, Tsukimura N, Yamada M, Ogawa T. Enhanced bone-integration capability of alkali- and heat-treated nanopolymorphic titanium in micro-to-nanoscale hierarchy Biomaterials. 2011;32(30):7297-308.
11. Kloss FR, Steinmüller-Nethl D, Stigler RG, Ennemoser T, Rasse M, Hächl O. In vivo investigation on connective tissue healing to polished surfaces with different surface wettability. Clin Oral Implants Res. 2011;22(7):699-705.
12. Mozumder MS, Zhu J, Perinpanayagam H. Titania-polymeric powder coatings with nano-topography

support enhanced human mesenchymal cell responses. J Biomed Mater Res A. 2012;100(10): 2695-709.
13. Fröjd V, Linderbäck P, Wennerberg A, Chávez de Paz L, Svensäter G, Davies JR. Effect of nanoporous TiO2 coating and anodized Ca2+ modification of titanium surfaces on early microbial biofilm formation. BMC oral health. 2011;8:11-8
14. Meirelles L, Albrektsson T, Kjellin P, Arvidsson A, Franke-Stenport V, Andersson M, Currie F, Wennerberg A. Bone reaction to nano hydroxyapatite modified titanium implants placed in a gap-healing model. J Biomed Mater Res A. 2008;87(3):624-31.
15. Cheng Z, Guo C, Dong W, He FM, Zhao SF, Yang GL. Effect of thin nano-hydroxyapatite coating on implant osseointegration in ovariectomized rats. J Mech Behav Biomed Mater. 2012;8:178-83.
16. Huang J, Li X, Koller GP, Di Silvio L, Vargas-Reus MA, Allaker RP. Electrohydrodynamic deposition of nanotitanium doped hydroxyapatite coating for medical and dental applications. J Mater Sci Mater Med. 2011;22(3):491-6.
17. Park J, Bauer S, Schlegel KA, Neukam FW, von der Mark K, Schmuki P. TiO2 nanotube surfaces: 15 nm-an optimal length scale of surface topography for cell adhesion and differentiation. Small 2009;5:666 – 671.
18. Brammer KS, Oh S, Cobb CJ, Bjursten LM, van der Heyde H, Jin S. Improved bone-forming functionality on diameter-controlled TiO2 nanotube surface. Acta Biomaterialia. 2009;5:3215-3223
19. Dalby MJ, Gadegaard N, Tare R, Andar A, Riehle MO, Herzyk P, Wilkinson CD, Oreffo RO. The control of human mesenchymal cell differentiation using nanoscale symmetry and disorder. Nat Mater. 2007;6(12):997-1003.
20. Li Y, Gao Y, Shao B, Xiao J, Hu K, Kong L. Effects of hydrofluoric acid and anodized micro and micro/nano surface implants on early osseointegration in rats. Br J Oral Maxillofac Surg. 2012;50(8): 779-83.
21. Suketa N, Sawase T, Kitaura H, Naito M, Baba K, Nakayama K, Wennerberg A, Atsuta M. An Antibacterial Surface on Dental Implants, Based on the Photocatalytic Bactericidal Effect. Clin Implant Dent Relat Res. 2005;7(2):105-11.
22. Oh SH. Nanotechnology in the surface treatment of titanium implant. Journal of Korean dental association. 2010;48(2):106-112.
23. Kim WH, Kim KN. An overview of research trends in antibacterial coatings on titanium implants. Journal of Korean dental association. 2010;48(2):113-118.

A Literature Review on Nano-Modified Implant Surfaces

Go-Woon Park[1], Min-Sang Cha[2], Dae-Gon Kim[1], Chan-Jin Park[1], Lee-Ra Cho[1]

[1]Department of Prosthodontics and Research Institute of Oral Science, Gangneung-Wonju National University
[2]Department of Dentistry, Gangneung Asan Hospital, University of Ulsan, College of Medicine

The nano-surface modification techniques could be classified; internal modifications which enhance surface roughness and porosity in nano level and external modifications as nano particle coating. Nano-modified implant surface has various morphograpies such as nanotube, nanopit, nanonodule and polymorphic structures. Creating surface depends upon preparation method and material, however, there is no standard preparation technique not yet. The nano-modified surfacet is electrochemically stable comparing with the surface modified in micron level. Nano-modified surface has little cytotoxicity, stimulates osteoblast proliferation and differentiation. Moreover, it decreases soft tissue intervention by interrupting the proliferation of fibroblast. Nanostructure has similar size and shape with cells and proteins, consequently leads to good biocompatibility and enhanced osseointegration. However, the actual effect in vivo is limited, due to the distance of effect. Even if nano-modified surface has antibiotic property due to photocatalysis, short duration time makes clinical application questionable. Further investigations should focus on the optimal nano-modified surface, which has many potentials.

Key words: nano-modified surface, cell response, photocatalysis, osstointegration

Correspondence to : Prof. Lee-Ra Cho
Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University, 1, GangneungDaehangno, Gangneung, Gangwon-Do, 210-702, Korea.
Fax: + 82-33-640-3103, E-mail: lila@gwnu.ac.kr
Received: March 10, 2013, Last Revision: April 20, 2013, Accepted: June 25, 2013