

당뇨쥐에서 임플란트 즉시 식립 후 조직계측학적 연구를 통한 임플란트 골유착 비교

김성민¹, 박수현², 허현아², 표성운²

¹가톨릭대학교 임상치과학 대학원 구강악안면외, ²가톨릭대학교 의과대학 치과학교실 구강악안면외과

ABSTRACT

Histomorphometric Study of New Bone Formation Around Immediately Placed Titanium Implant on the Extraction Socket of Diabetic and Insulin Treated Rat

Sung-min Kim¹, Suhyun Park², Hyun-a Heo², Sung-woon Pyo²

¹*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Graduate School of Clinical Dentistry,
The Catholic University of Korea*

²*Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Dentistry College of Medicine,
The Catholic University of Korea*

Introduction: Dental implants are routinely used with high success rates in generally healthy individuals. By contrast, their use in patients with diabetes mellitus remains controversial as altered bone healing around implants has been reported. The present study aimed to investigate the bone healing response around immediately placed titanium implants in the rats with controlled and uncontrolled diabetes.

Materials and Methods: Twenty rats were divided into the control, insulin-treated and diabetic groups. The rats received streptozotocin (60 mg/kg) to induce diabetes; animals in the insulin-treated group also received three units of subcutaneous slow-release insulin. A titanium implant (1.2×3 mm) was placed in the extraction socket of the maxillary first molar and was harvested at 2 and 4 weeks. After routine process of histologic process, section were measured for Bone-implant contact, bone density using Image analysis program.

Results: After 2 weeks post-implantation, BCR (Bone contract ratio) of the control, the diabetic group and insulin-treated group was 42.62%, 24.55% and 27.75%, respectively. The BCR of the control was lower than the diabetic group and insulin-treated group. After 4 weeks post-implantation, BCR (Bone contract ratio) of the control, the diabetic group and insulin-treated group was 45.32%, 39.14% and 43.84%, respectively. Also, the results of bone density was showed a similar pattern of the results of BCR.

Conclusion: The immediate placement of titanium implants in the maxilla of controlled diabetic rat led to a wanted bone healing response. In conclusion, the results of this study suggest that immediate implant insertion in patients with controlled diabetes might be indicated.

Key words : Diabetes mellitus, Dental implants, Insulin, Bone formation, Osseointegration

Correspondence : Prof. Sung-woon Pyo
Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Bucheon St. Mary's Hospital,
College of Medicine, The Catholic University of Korea, 327 Sosa-ro, Buchoen,
Gyeonggi 14647, Republic of Korea
Tel: +82-32-340-2130, fax: +82-32-340-2255
E-mail: spyo@catholic.ac.kr
Received: October 7, 2016; Revised: October 15, 2016; Accepted: October 21, 2016

서 론

당뇨는 신체가 충분한 인슐린을 생산하지 못하거나, 생산된 인슐린에 세포가 반응하지 못해서 생기는 높은 혈당을 가지는 대사성 질환이다. 이런 고혈당은 전통적으로 알려진 다뇨, 다갈, 다식의 증상을 보인다. 조절되는 당뇨병환자는 건강한 사람과의 차이가 별로 없음이 나타나, 고혈당 환자는 상처치유의 지연, 감염의 증가의 특징을 가진다¹.

당뇨 환자에게 치과 임플란트의 사용은 성공률과 술후 관리에 있어 논란이 있다². 최근에는 당뇨를 가진 실험동물에 치과용 임플란트를 식립하는 것에 대한 연구를 통해 밝혀진 바는 혈당 조절이 잘 되고 있을 경우에는 당뇨가 임플란트 식립에 절대적인 비적응증은 아니라는 것이다. 대부분의 시험결과에서 당뇨가 조절되는 당뇨병환(2형)과 당뇨가 없는 군에서 임플란트의 조기 실패의 통계적 차이가 보이지 않았다³. 반면, Moy 등은 그들의 연구에서 혈당조절이 잘되는 상황에 불구하고 48개 당뇨병환은 비당뇨군에 비해 확연히 낮은 임플란트 성공률을 보였다⁴.

발치즉시 임플란트 식립은 건강한 사람들에게 결손치를 수복할 수 있는 탁월한 치료 전략이 되었다⁵⁻⁷. 이는 조직 외상이 적고 전반적인 치료 기간이 줄고, 환자는 근심과 불편감을 줄이며, 높은 환자 동의율과 더 나은 기능과 심미성을 보여 인기를 얻어가고 있다. 위의 사실을 통해 당뇨병환자의 발치 즉시 식립이 가능한 선택의 치료방법 될 수 있을 것이라 사료된다.

이 연구의 목적은 제1형 당뇨병환에서 상악에 발치 즉시 임플란트 주위의 골형성 능력에 대해 알아보고, 당뇨가 조절되지 않는 군과 조절되는 군과의 골형성 반응을 조직계측학적으로 측정하여 차이를 알아보기 위함이다.

재료 및 방법

1. 실험동물

10주된 평균 무게 350 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 20마리를 정상군(n=4), 당뇨병환(n=8), 인슐린 치료군(n=8)으로 분류하였다. 실험동물의 사육은 실내온도 25±1°C가 유지되는 사육실에서 각 우리마다 1~2마리씩 사육하였고, 시험동물용 고형사료와 멸균된 음수를

자유섭식하며 시행하였다. 이 실험은 가톨릭대학교 부천성모병원 동물실험 윤리위원회의 심의를 거친 후 진행하였다(HFA-001).

2. 당뇨병유도 및 당뇨병조절

당뇨유도는 STZ 60 mg/kg (Sigma, St. Louis, MO, USA)을 0.02 M 구연산(Citrate acid, Sigma, St. Louis, MO, USA)에 용해시켜, 50 mg/kg을 복강 내에 투여하였다. 다음날 꼬리에서 혈액을 채취하여 혈당계(ACCU-CHECK Active, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)로 혈당치를 측정하고, 그 수치가 300 mg/dL 이상임을 확인하였다. 혈당 조절을 위해 인슐린 치료군에게 유도 다음 날부터 매일 복부에 서방형 인슐린(Lantus, Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)을 3 IU씩 피하 주사하였다.

3. 외과적 처치 및 임플란트 식립

케타민(Ketamine HCl, Ketalar, Yuhan, Seoul, Korea) 50 mg/kg과 자일라진(Zylaxine HCl, Rompun, Bayer, Seoul, Korea) 5 mg/kg를 혼합하여 복강 내 주사하여 전신마취를 유도하였다. 양측 상악 제1대구치를 치조골의 손상이 없도록 유의하여 발치하고 발치와 치근 중격 내 직경 1.0 mm의 파일롯 드릴로 천공 후 발치와 내에 직경 1.2 mm, 길이 3 mm의 타이타늄 임플란트(Grade IV, Leibinger-Stryker, Freiburg, Germany)를 삽입하였다. 임플란트의 경부를 발치와의 치조정에 위치시켰으며, 식립할 때 충분한 생리식염수의 주사로 발열을 최소화하였다(Figs 1, 2).

4. 조직학적 과정

일반적인 조직학적인 탈수와 재수화 과정 후에 조직 표본을 historesin으로 포매한 후 임플란트 장축에 평행하게 100 µm 두께로 제작하였다. 잘라진 절편은 hematoxylin & eosin으로 염색하였고, Panoramic digital slide scanner (3D Histech Ltd. Budapest, Hungary)로 스캔하고 관찰하였다.

5. 조직계측학적 분석

스캔된 사진을 이용해, 임플란트의 bone-contact ratio (BCR)를 계산하였다. 임플란트의 첫 번째 나선선에서 관찰되는 골 부위를 이용하여 계산하였다. 이런 조직형태학적 분석은 이미지 분석 프로그램(Panoramic Viewer ver.

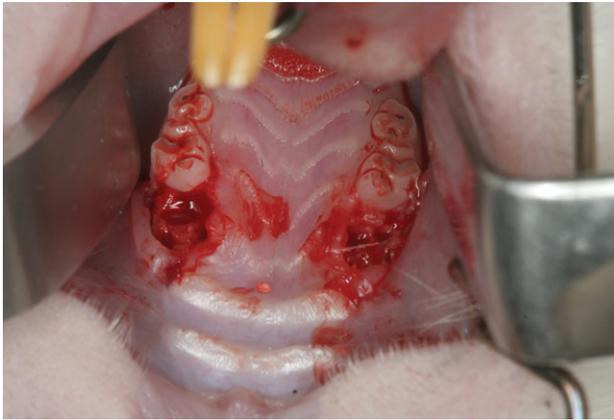


Figure 1. Extraction site without root fracture.

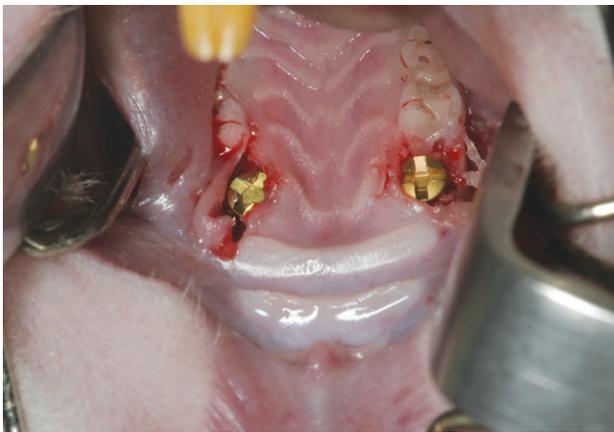


Figure 2. Implant fixture installation was completed.

1.14.50, 3D Histech Ltd.)을 이용하여 시행하였다 (Figs 3-5).

Bone-contact ratio (BCR) (%) = the length of the bone-implant contact / the length of implant surface

Bone density (BD) (%) = The area of bone in the first pitch / (The area of medulla + The area of bone in the first pitch)

6. 통계학적 분석

대조군, 당뇨군, 인슐린 군의 조직계측학적인 자료를 통계학적으로 분석하였다. 유의성을 찾기 위하여 Student's t-test를 시행하였고, P<0.05일 때 통계적 유의성을 부여하였다.

면적과 접촉면 계측의 신뢰성을 확인하기 위해, 동일한 검사자가 처음 계측시행한 날로부터 1개월 후에 다

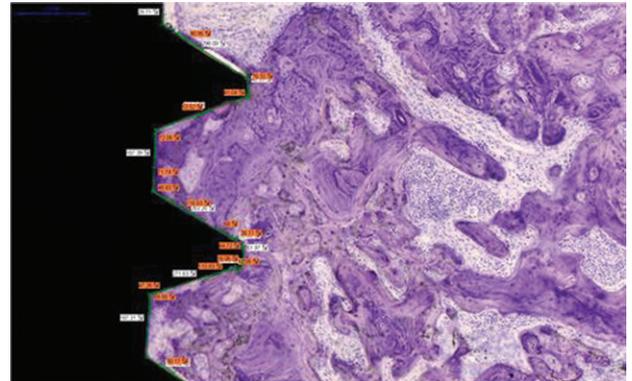


Figure 3. 4 weeks control group Bone implant contact: the number in the white box indicate implant surface area, the number in the orange box indicate bone-implant contact area.

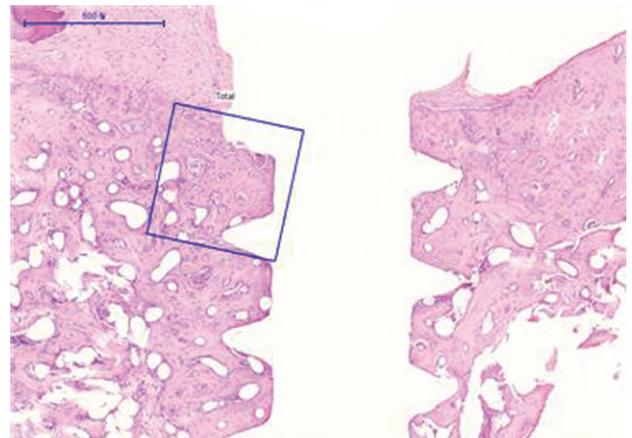


Figure 4. 4 weeks, diabetic group: Representative diagram measuring bone density in implant first pitch.

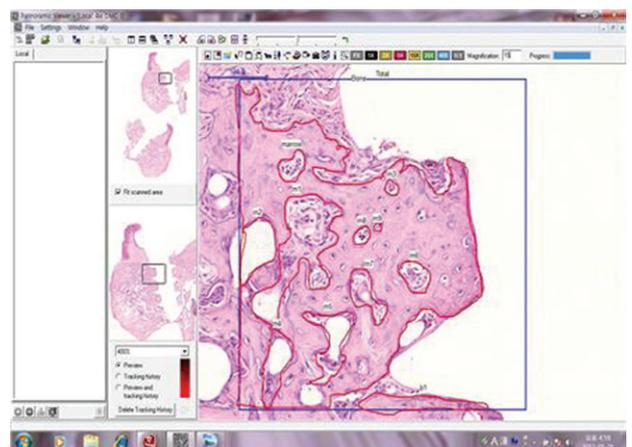


Figure 5. 4 weeks diabetic group: Example for bone density measurement.

시 계측하였다. 이들 계측값들의 신뢰도를 확인하기 위해 급내상관계수 (Intraclass correlation coefficient)를 확인하였고, 모두 $R^2 > 0.99$ 로 계측값들은 높은 신뢰도를 보였다.

결 과

각 군별로 발치 후 즉시 임플란트 식립 후 2주, 4주 경과 후의 H&E 조직 슬라이드를 스캔하여, 주변 골과 임플란트의 변화상을 상호 비교하였다. 발치 즉시 임플란트 식립 후 2주에는 정상적인 대조군과 인슐린군, 당뇨군 사이에 BCR이 각각 42.62%, 24.55%, 27.75%로 대조군에 비해 인슐린군과 당뇨군이 그 수치가 낮았다. 4주에서는 대조군, 인슐린군과 당뇨군에서 BCR가 각각 45.32%, 39.14%와 43.84%로 당뇨군은 대조군보다 그 수치가 약 6% 가량 낮았고, 대조군과 인슐린군의 수치는 차이가 거의 없는 것을 확인할 수 있었다.

또한, BD는 2주에서는 대조군과 인슐린, 당뇨군에서 $36.8 \pm 0.1\%$, $33.5 \pm 0.1\%$, $34.45 \pm 0.05\%$ 로 대조군에 비해 인슐린군과 당뇨군이 그 수치가 낮았다. 4주에서는 대조군, 인슐린군과 당뇨군이 $44.95 \pm 0.15\%$, $43.8 \pm 0.3\%$, $40.5 \pm 0.15\%$ 로 당뇨군은 대조군보다 약 5% 가량 차이를 보였지만, 대조군과 인슐린군의 수치는 차이가 거의 없었다 (Tables 1, 2).

고 찰

당뇨는 확장혈관 합병증으로 심근경색, 뇌혈관질환, 말초동맥질환 등의 전신적 합병증뿐만 아니라, 치주질환과 구강질환과 같은 미세혈관 합병증도 일으킨다. 이러한

당뇨병은 임상적으로 연조직과 경조직의 치유를 지연시키고, 감염의 감수성을 증가시키는 등의 문제점을 야기하나, 일반적인 치과치료와 마찬가지로 임플란트 치료에서도 수술전후에 주의사항을 주지하였을 때, 임상적으로 우수한 결과를 보이고 있다².

지금까지 전신질환이 없는 정상적인 환자에 대한 골-임플란트 접촉에 대한 연구는 많았지만³, 당뇨환자에서의 임플란트 주변의 골반응에 대한 연구는 그다지 많지 않았으며, 특히 현재 임상에서 많이 시도되고 있는 발치 즉시 식립 후 골반응에 대한 연구는 더욱 없었다.

이 연구에서 당뇨모델로 쥐를 택하고 STZ로 제1형 당뇨를 유발하고, 정상군과 인슐린 치료군 그리고 당뇨군의 상악골의 발치 와에서 임플란트 식립 후의 신생골형성 반응을 관찰하고자 하였다.

골은 화학적 물리적 자극에 대하여 골모세포와 파골세포에 의한 끊임없는 재개조 (remodeling)를 수행한다. 당뇨에서 골치유와 재개조의 감소는 인슐린과 insulin-like growth factor I (IGF-I)의 분비량이 감소되어서이며, advanced glycosylation-end products (AGE)와 염증전 사이토카인의 증가되었기 때문으로 사료된다. 더욱이 골에 혈액관류가 저하되며, 신장 이상으로 칼슘과 인산의 뇨중으로 과다 배출노 (calciuria, phosphaturia) 및 대사성 산증이 동반되기 때문으로 알려져 있다⁴.

이러한 변화는 골밀도의 감소를 가져오며, 골변화율 (turnover rate)와 골소실의 증가가 나타난다. 당뇨 유발된 동물모델은 골모세포와 파골세포의 숫자와 기능이 모두 감소되며, 인슐린 분비량의 감소는 골형성 면적, 골미네랄의 침착의 감소가 보인다⁷. 이러한 반응은 당뇨군에서 재개조 현상의 부족으로 유추된다⁸. 당뇨군에서의 조직학적 골 형태는 성숙한 층판골의 형태보다는 미성숙골의 형태이며 골형성 과정이 매우 늦다.

통상 당뇨환자에서 임플란트 식립에 의한 치료가 금기임에도 불구하고, 당뇨환자의 임플란트 식립 후 골유착 성공률도 높다고 보고되어 왔다⁹. Morris 등은 제2형 당뇨환자에서 임플란트 치료 성공률이 정상적인 환자에 비해 낮지 않음을 보고한 반면⁹, Fiorellini 등은 조절이 잘 되는 당뇨환자라 할지라도 임플란트 식립 성공률이 6.5년 후 평균 86%로 그다지 높지 않다고 보고하였다¹⁰. 이전 동물실험은 당뇨모델들이 비당뇨모델에 비해서 골-임플란트 접촉이 감소됨을 입증해 왔다¹¹. 그러나, 인슐린으로 조절된 당뇨군에서 골형성과 골융합이 증가됨을 보여주었다¹²⁻¹⁴. 인슐린은 혈당조절뿐만 아니라, 골

Table 1. Comparison of bone contact ratio in control, diabetic and insulin groups

	Control (%)	Diabetic (%)	Insulin (%)
2 weeks	42.62	24.55	27.75
4 weeks	45.32	39.14	43.84

Table 2. Comparison of bone density in control, diabetic and insulin groups

	Control (%)	Diabetic (%)	Insulin (%)
2 weeks	36.8 ± 0.1	33.5 ± 0.1	34.45 ± 0.05
4 weeks	44.95 ± 0.15	40.5 ± 0.15	43.8 ± 0.3

형성과 무기질 침착, 골기질형성의 유도, 골밀도 증가에 관여하는 인자로 작용하는 것으로 보인다. 인슐린으로 조절된 당뇨쥐에서 골유착된 임플란트는 4개월간 BIC (bone-implant contact)가 잘 유지되었다¹⁵. 이번 연구에서, 인슐린으로 조절되고 있는 당뇨군은 정상군과 BIC, BD의 계측치로 볼 때, 유사한 반응을 보이고 있어 기존 결과와 동일함을 보였다.

지금까지 당뇨유도가 가능한 동물모델에서의 연구는 비골, 경골에 식립한 임플란트에 대한 골반응을 주된 관찰점으로 시행하였다^{15,16}. 이 부위들은 골형태가 단단한 피질골과 골수강으로 이루어져 있어 초기 고정이 유리하며, 해부학적 그리고 생물학적 특징이 악골과 상이하다. 따라서 실험모델을 선택할 때 임플란트 식립 부위의 본질에 대한 고려가 매우 중요하며, 그래야 결과를 실제 임상에 적용할 수 있을 것이다. 당뇨유발이 가능한 실험 동물모델의 상악골을 대상으로 한 연구와 특히 즉시 식립 후 주변 골의 반응에 대한 연구는 매우 미미하다^{17,18}. 제2형 당뇨실험에서 정상군보다 당뇨군에서 4주간에서는 BIC가 현저히 작게 나타났으나 8주간의 치유기간에서는 큰 차이를 보이지 않았다.

이 연구모델의 장점은 임상과 동일한 환경을 적용한 것이다. 그러나 이번 연구는 제1형 당뇨질환의 모델에 의한 연구였으므로 이에 제한점이 있다. 또한 본 연구에서는 개체의 표본 수가 적어 조직계측학적 연구 등의 통계적인 의미를 부여할 수 없었으며, 한 개체에서의 종적인 연구가 이루어지지 않아, 개체 간의 골반응의 차이가 발생할 수 있다는 점 등이 결과의 해석에 오차를 가져올 수 있었다. 앞으로 당뇨병의 다수를 차지하는 제2형 당뇨에 대한 연구를 위한 동물모델의 개발이 시급하다고 생각한다.

결 론

제1형 당뇨모델 흰쥐의 상악골 발치와에 즉시 식립한 임플란트에 대한 골형성반응은 정상군과 비교하였을 때 저하되었으나, 인슐린 치료군은 정상군과 유사하여 인슐린이 골형성과정에 부분적으로 기여하는 것으로 여겨졌다. 이상의 결과로 혈당조절이 불가능한 당뇨환자의 임플란트 즉시 식립치료법은 적절하지 못하며, 성공적인 골유착을 위해서 대사기능의 조절이 필요하다고 생각한다.

참 고 문 헌

1. McMurry JF Jr. Wound healing with diabetes mellitus. Better glucose control for better wound healing in diabetes. *Surg Clin North Am* 1984;64:769-78.
2. Kotsovilis S, Karoussis IK, Fourmousis I. A comprehensive and critical review of dental implant placement in diabetic animals and patients. *Clin Oral Implants Res* 2006;17:587-99.
3. Alsaadi G, Quirynen M, Komarek A, van Steenberghe D. Impact of local and systemic factors on the incidence of oral implant failures, up to abutment connection. *J Clin Periodontol* 2007;34:610-7.
4. Moy PK, Medina D, Shetty V, Aghaloo TL. Dental implant failure rates and associated risk factors. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:569-77.
5. Romanos GE, Testori T, Degidi M, Piattelli A. Histologic and histomorphometric findings from retrieved, immediately occlusally loaded implants in humans. *J Periodontol* 2005;76:1823-32.
6. Chaushu G, Chaushu S, Tzohar A, Dayan D. Immediate loading of single-tooth implants : immediate versus non-immediate implantation. A clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16:267-72.
7. Lu H, Kraut D, Gerstenfeld LC, Graves DT. Diabetes interferes with the bone formation by affecting the expression of transcription factors that regulate osteoblast differentiation. *Endocrinology* 2003;144:346-52.
8. Giglio MJ, Giannunzio G, Olmedo D, Guglielmotti MB. Histomorphometric study of bone healing around laminar implants in experimental diabetes. *Implant Dent* 2000;9:143-9.
9. Morris HF, Ochi S, Winkler S. Implant survival in patients with type 2 diabetes: placement to 36 months. *Ann Periodontol* 2000;5:157-65.
10. Fiorellini JP, Chen PK, Nevins M, Nevins ML. A retrospective study of dental implants in diabetic patients. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000;20:366-73.
11. Nevins ML, Karimbux NY, Weber HP, Giannobile WV, Fiorellini JP. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13:620-9.
12. McCracken MS, Aponte-Wesson R, Chavali R, Lemons JE. Bone associated with implants in diabetic and insulin-treated rats. *Clin Oral Implants Res* 2006;17:495-500.
13. Takeshita F, Iyama S, Ayukawa Y, Kido MA, Murai K, Suetsugu T. The effects of diabetes on the interface between hydroxyapatite implants and bone in rat tibia. *J Periodontol* 1997;68:180-5.
14. Siqueira JT, Cavalher-Machado SC, Arana-Chavez VE, Sannomiya P. Bone formation around titanium implants in the rat tibia: role of insulin. *Implant Dent* 2003;12:242-51.
15. Kwon PT, Rahman SS, Kim DM, Kopman JA, Karimbux NY, Fiorellini JP. Maintenance of osseointegration utilizing insulin

- therapy in a diabetic rat model. *J Periodontol* 2005;76:621-6.
16. Hasegawa H, Ozawa S, Hashimoto K, Takeichi T, Ogawa T. Type 2 diabetes impairs implant osseointegration capacity in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:237-46.
17. Shirakura M, Fujii N, Ohnishi H, Taguchi Y, Ohshima H, Nomura S, et al. Tissue response to titanium implantation in the rat maxilla, with special reference to the effects of surface conditions on bone formation. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:687-96.
18. Shyng YC, Devlin H, Ou KL. Bone formation around immediately placed oral implants in diabetic rats. *Int J Prosthodont* 2006;19:513-4.