

알렌드로네이트의 투여기간이 발치와의 치유에 미치는 영향: 예비실험

김지환^{1,2†} · 홍종환^{1†} · 최현민¹ · 박영범^{1,2} · 문홍석^{1,2*}

연세대학교 치과대학 ¹보철학교실, ²부설 구강과학연구소

The effect of alendronates administration duration on the healing of extraction socket in rats: pilot study

Jee-Hwan Kim^{1,2†}, DDS, MSD, PhD, Jong-Hwan Hong^{1†}, DDS, MSD, PhD, Hyun-Min Choi¹, BDS, Young-Bum Park^{1,2}, DDS, MSD, PhD, Hong-Seok Moon^{1,2*}, DDS, MSD, PhD

¹Department of Prosthodontics, ²Oral Science Research Center, College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea

Purpose: The purpose of this study was to investigate the effect of different administration duration of alendronate on initial wound healing and new bone formation of extraction socket in rats. **Materials and methods:** Fifteen male Sprague-Dawley rats (body weight 130-140 g, 4 weeks old, male) were divided into control group (no alendronate administration) and experimental group (alendronate administration). Experimental group was subdivided into 1 week administrated group, 2 week administrated group, 4 week administrated group and 6 week administrated group according to duration of administration. For the experimental groups, during the designated time period (at the time of extraction, 1 week before extraction, 3 week before extraction and 5 week before extraction) till 1 week after extraction, rats were subcutaneously injected with Alendronate at the dose of 1.0 mg/Kg three times a week. Each specimen from 6 week experimental group and control group were used for microarray analysis, and other specimens were used for histological analysis. The rate of new bone formation within the extraction site and bone loss activity was analyzed using TRAP staining. Statistical analysis was performed using Kruskal Wallis test. ($\alpha=0.05$) **Results:** After one week from the time of extraction, the rate of new bone formation within extraction site for the control group ($16.77\% \pm 1.36\%$) compared to the 4 week experimental group ($14.99\% \pm 6.26\%$) was lower. However, no statistically significant difference was found. Increase in the number of inactive lacuna (empty lacuna) and decrease in the number of TRAP positive cell were identified with increased duration of administration. There was no significant difference. **Conclusion:** The results of this study showed as the duration of Alendronate administration increased the rate of new bone formation decreased with loss of bone activity and reduced number of osteoclast. (*J Korean Acad Prosthodont 2013;51:175-82*)

Key words: Alendronate; Bisphosphonate; Extraction socket; bisphosphonate related osteonecrosis of jaw; Wound healing

서론

비스포스포네이트는 무기질인 칼슘과 높은 흡착력을 갖는 화학적으로 안정된 무기 파이로인산(inorganic pyrophosphate)의 유도체로서 골흡수 감소효과가 있어 골다공증 환자에서 널리 사용된다. 또한, 혈관형성 억제 작용이 있어서 항암치료에 사용되기도 하며, 암세포의 골격계 조직으로의 전이 방지와 통증

을 예방하기 위한 목적으로 사용되는 약제이기도 하다.^{1,2} 하지만 이 약제의 부작용으로 악골의 괴사가 보고되었는데, 2003년 Marx³가 비스포스포네이트를 투여 받은 암환자에서 치과치료 후 악골괴사가 발생한 것을 처음 보고한 이후로 비스포스포네이트의 부작용에 관한 여러 보고가 있었다.^{4,6} 비스포스포네이트 연관 악골괴사의 주요증상은 감염을 동반한 괴사된 골의 노출로 통증, 부종, 감각이상, 농배출, 연조직 궤양 등이 있으며

*Corresponding Author: Hong-Seok Moon

Department of Prosthodontics, Yonsei University College of Dentistry and Oral Science Research Center, 50 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul, 120-752, Korea

+82 2 2228 3155; e-mail, hsm5@yuhs.ac

Article history: Received June 13, 2013 / Last Revision July 1, 2013 / Accepted July 10, 2013

© 2013 The Korean Academy of Prosthodontics

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*This study was supported by a faculty research grant of Yonsei University College of Dentistry (6-2012-0064).

†These authors contributed equally to this work.

구내 또는 구외 누공 등을 동반하기도 한다.⁷ 비스포스포네이트 연관 악골괴사의 기전과 관련하여서는 논란이 있으며 골세포 기능의 억제, 혈관생성의 억제, 감염 등이 유발원인으로 생각되고 있고 있지만 아직까지 명확하게 그 기전이 밝혀지지는 않았다.⁸

비스포스포네이트 연관 악골괴사를 유발시키는 요인으로는 발치나 치주수술, 치아 및 치조골 수술 등의 치과치료가 가장 일반적인 위험요소로 알려져 있다. 특히 발치가 이 질환을 일으킬 가능성이 가장 높은 치료로 보고 되면서 발치 후 발치와의 창상치유에 비스포스포네이트가 어떤 영향을 미치는가에 대한 연구들이 보고되고 있다.⁶ Hikita 등⁹은 백서를 이용한 실험에서 발치 1주 후 치유 시점에서의 치유 지연이 악골괴사와 연관성이 있을 수 있다고 보고하였다. Kobayashi 등¹⁰의 졸렌드로네이트(zolendronate)를 이용한 연구에 의하면 비스포스포네이트가 발치 후 초기 발치와에서 신생골 형성지연, 혈관형성에 반드시 필요한 혈관 내상피세포의 증식억제를 통한 혈관형성억제 그리고 구강상피세포의 이주억제를 통해 창상치유를 지연시킨다고 보고 하였다. Yamamoto 등¹¹은 Osteoprotegerin (OPG) 결핍 쥐를 이용한 실험에서 조골세포가 파골 세포를 유도하기 위한 미세환경을 제공한다고 보고하였으며, Tabuchi 등¹²도 신생골 형성의 초기과정에서 파골 세포가 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 파골 세포의 활성화가 골 형성에 영향을 미치는데 이 파골 세포의 기능 억제가 창상치유지연을 유발한다고 생각할 수 있다. 여러 연구들의 결과로 비스포스포네이트 투여가 파골 세포의 기능억제를 통해 신생 골 형성의 억제에 의한 발치와의 창상 치유 지연에 영향을 미치며, 특히 혈관 형성 과정에 중요한 영향을 미칠 것으로 생각된다. 반면에 Graziani 등¹³은 비스포스포네이트 투여가 사랑니 발치와 치유에 긍정적 영향을 주었다고 보고하고 있으며 Miettinen 등¹⁴은 졸레드로산(Zoledronic acid)이 부상으로 인한 골 손실을 억제하기 때문에 임플란트 주위 골의 보존에 도움이 된다고 보고한 바 있다.

이러한 기존 선행연구들의 상이한 결과는 행해진 연구방법이 상이했다는 점이 영향을 주었을 수 있다. 다양한 비스포스포네이트 제제의 약물이 사용되었으며 약물의 투여농도나 기간이 다양하였다는 점도 영향을 미쳤을 것이다. 백서를 이용했던 Viera-Negrón 등¹⁵의 연구에서는 시술 4주전부터 알렌드로네이트를 주 3회 5 mg/kg 농도로 투여하였으며 결과에서는 비스포스포네이트 투약시 임플란트의 골융합이 향상되었다

고도 보고한 바 있다. 역시 백서를 이용했던 Hikita 등⁹의 연구에서는 알렌드로네이트를 발치 2일전부터 주 2회 1.0 mg/kg의 농도로 투여하였고 Kim 등¹⁶의 연구에서는 알렌드로네이트를 시술 4주전부터 5.0mg/kg의 농도로 주 3회 투여하였으며 Aguirre 등¹⁷의 연구에서는 알렌드로네이트를 150 ug/kg의 농도로 3주전부터 주 2회 투여하였다. 이러한듯 각각의 동물실험에서 사용된 제제의 농도와 투여기간에는 차이가 있었다.

따라서 본 연구에서는 비스포스포네이트 제제의 투여기간을 달리하였을 때 발치와의 치유에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다.

연구 재료 및 방법

4 주령 백서(Sprague-Dawley Rat, Body weight 130-140 g) 15마리를 이용하여 알렌드로네이트(Merial Inc., Parramatta, Australia) 투여군(실험군)과 투여하지 않은 대조군으로 나누고 실험군은 다시 투여기간에 따라 1주 투여군, 2주 투여군, 4주 투여군, 6주 투여군까지 그룹별 3마리씩 총 4개의 실험군으로 나눴다. 6주 투여군 중 2마리는 미세 배열분석과 조직학적 분석에 각각 한 마리씩 사용되었고 남은 한마리는 6주투여군에 대한 대조군으로 사용되었다(Table 1). 실험에 사용된 백서들은 자유롭게 물과 음식을 섭취할 수 있게 하였고 연세대학교 치과대학 동물 실험실에서 사육되었으며 모든 실험은 연세대학교 치과대학에서 제시하는 동물 실험 지침에 따라서 시행되었다. 비스포스포네이트 제제는 각 실험군들의 투여기간 설정에 맞게 투여하기 시작하여 발치 1주 후 희생 되기 전까지 매주 3회씩 알렌드로네이트를 1 mg/kg의 농도로 피하주사로 투여되었다. 발치 등의 외과적인 과정은 럼퐁(xylazine, 20 mg/ml, 0.5 ml/kg body mass; Bayer, Leverkusen, Germany)과 졸레틸(tiletamine and zolazepam, 100 mg/ml, 0.5 ml/kg body mass; Virbac Lab. Carros, France)을 혼합한 마취제를 근육내 주사하여 전신 마취시킨 후 상악 좌측 제 1대구치를 발치하였다(Fig. 1).¹⁸

발치 1주 후 각각의 실험군과 대조군은 실험목적에 맞게 4% 포름알데히드(paraformaldehyde)를 심장에 주사하는 관류 고정을 통해 희생하여 각각 형태학적, 조직학적 분석을 시행하였다.

모든 시편은 실내온도 4℃ 실험실내에서 10% EDTA에 담겨서 2개월 동안 탈회 후 마이크로톰을 이용하여 7 μm 두께로 절단하여 H&E (Hematoxylin-Eosin)염색을 시행하였고 Acid phos-

Table 1. Study design

Group	Initial injection time	Alendronate Injection period	Number of rats
Control	None	None	3
1 w group	At the time of extraction	1 week	3
2 w group	1 week before extraction	2 week	3
4 w group	3 week before extraction	4 week	3
6 w group	5 week before extraction	6 week	3



Fig. 1. Extraction socket of the first molar of the rat. A: Right maxillary first molar of the rat, B: Extraction socket C: Extracted maxillary first molar.

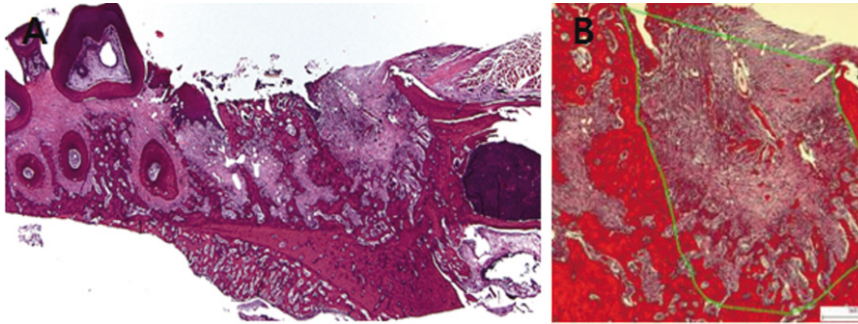


Fig. 2. A: Interested area of extraction socket (H&E stain $\times 12.5$), B: Border of mesial root (H&E stain $\times 50$) - Image Pro plus program version 4.5 software (Media cybernetics Inc, USA).

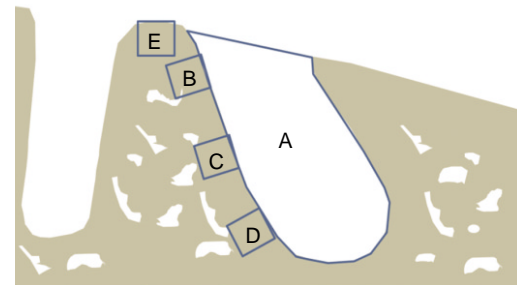


Fig. 3. The selected area for measurement in the extracted socket of mesial root. A: Extracted socket area of the maxillary first molar, B-D: 3 lateral areas beside the mesial root, E: Septum area. Each blue square ($300 \mu\text{m} \times 300 \mu\text{m}$).

phatase leukocyte kit (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 TRAP (tartrate-resistant acid phosphatase)염색을 시행하였다. 발치와의 창상치유과정은 H&E 염색된 시편에서 광학현미경하(Leica DM 2500, Leica Microsystems, Germany)에서 관찰되었다. 발치와의 근심치근의 명확한 경계부위에서 골 부위를 측정하였고 Image Pro plus program version 4.5 software (Media cybernetics Inc, USA)을 이용하여 발치와를 채운 판상골(trabecular bone)을 전체 치근면적 대비 형성된 신생 골의 면적을 백분율(%)로 정량화하였다(Fig. 2, 3). 발치와의 경계는 신생 골이 형성되지 않은 규칙적인 윤곽과 reversal lines에 의해 명확히 구별되었다. 발치와의 격벽 부위에서 $300 \mu\text{m} \times 300 \mu\text{m}$ 의 영역 다섯 부위를 일정하게 정하여 골소강이 비어있는 골세포의 수를 세었고 TRAP 염색 시편에서는 TRAP (tartrate-resistant acid phosphatase)이 파골세포의 표지자이므로 발치와의 격벽 부위에서 $300 \mu\text{m} \times 300 \mu\text{m}$ 의 영역 다섯 부위를 일정하게 정한 후 TRAP-positive cells을 계수하였다(Fig. 3).

비스포스포네이트의 투여 여부가 발치 1주 후의 발치와 치유과정 중에서 발치와 와 주변골의 DNA 발현양상에 미치는 영향을 보기 위해 미세배열분석(Microarray analysis)을 시행하였다. 발치 전 비스포스포네이트를 투약한지 5주된 백서에서

상약 제1대구치를 발치한 실험군과 투약없이 동일한 치아를 발치한 대조군에서 발치 1주 후 희생시켜 발치와 주위 골을 채취 하여 미세배열분석을 시행하였다. 미세배열 분석은 Rat genome 230 2.0 array (Affymetrix, Santa Clara, USA)을 이용하여 진행되었다. 채득된 조직은 RNAAlter[®]Soln (Ambion)에 보존하여 분석을 하였다. 통계학적 분석으로 실험군과 대조군 사이에서의 평균치의 유의한 차이가 있는지 비교하기 위해서 Kruskal Wallis test 를 시행하였다(SPSS 18.0 software, Chicago, IL, USA).

결과

조직학적 분석에서는 H&E 염색 후 광학현미경하에서 $\times 12.5$ 배율로 근심치근의 발치와를 확인 후, $\times 50$ 배율로 전체 근심치근 발치와에서 새롭게 형성된 신생 골의 면적을 %로 정량화하였다(Fig. 4). 신생골 형성 정도는 통계적으로 유의차를 보이지 않았다($P=.910$) (Table 2).

6주군은 조직학적 분석 시편수가 한 개였기 때문에 통계적 분석은 하지 않았지만, 측정된 값은 7.71%로 4주 투여 군의 평균치보다 더 적은 수치를 나타내어 투여기간이 길어질수록 새롭게 형성되는 신생골의 양이 작아지는 경향을 나타내고 있음

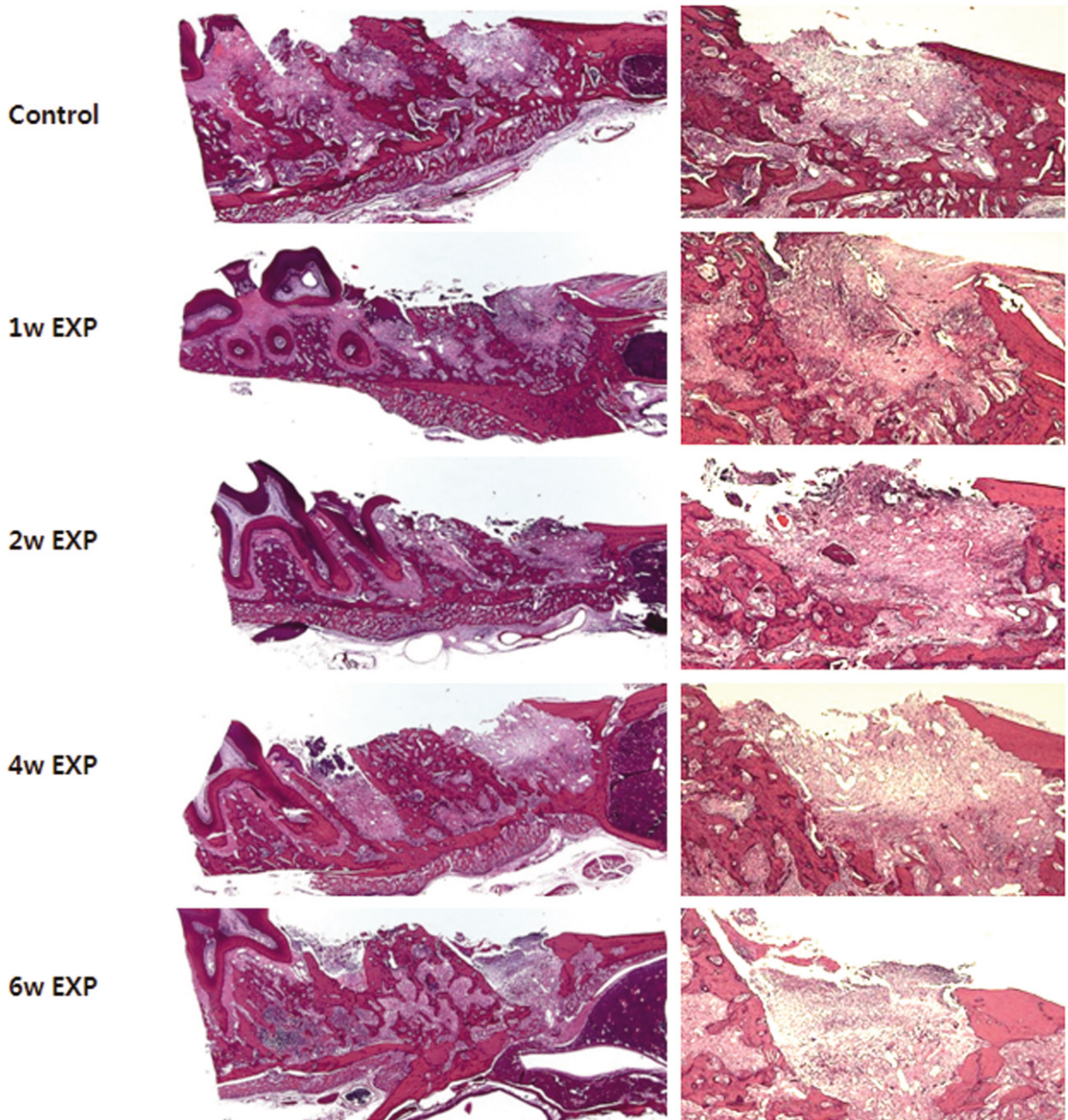


Fig. 4. Extraction socket areas of the each group. Left: H&E, ×12.5, Right: H&E, ×50)

Table 2. Newly formed bone area (%) in mesial root area of extraction socket

	Con	1 w EXP	2 w EXP	4 w EXP
Bone area (%)	16.77 ± 1.36	17.66 ± 2.76	16.94 ± 2.84	14.99 ± 6.26

Values are presented as mean ± standard deviation

을 알 수 있었다.

또한, 파골세포를 계수하였을 때 대조군보다 실험군에서 생존력을 잃은 세포수는 투여기간이 증가할수록 증가하였으나 (Table 3, Fig. 5), 통계적으로는 유의한 차이를 보이지는 않았다. ($P=.077$) 통계적 분석에서는 제외되었던 6주군에서는 세포수가 175개로 4주 투여군의 평균보다 높게 측정되었다. TRAP positive cell은 2주와 4주 투여군에서 대조군에 비해 다소 감소하는 경향을 보이거나 통계적으로 유의하지는 않았다($P=.459$) (Table 3, Fig. 6).

미세분석결과(Microarray analysis)에서는 다양한 유전자들의 발현차이가 있었지만 골의 치유와 관련되는 유전자들에서의 변화양상을 위주로 보면 angiopoietin-1과 c-for induced growth factor (Fig. f)의 유전자가 하향 발현되었다(Table 4).

고찰

비스포스포네이트 제재의 합병증으로 대두된 악골 괴사의 원인을 밝히고자 하는 연구가 계속 행해져 온 가운데 동물실험을 통하여 비스포스포네이트의 영향을 확인하고자 했던 실험들이 다수 보고되었다.^{9,19,22} 이러한 연구들의 결과는 서로 상반되는 양상을 거론하였는데 최근의 Hikita 등⁹의 연구에서는 발치와의 치유가 지연됨이 언급되었고 반면에 Kurth 등²⁰의 연구에서는 골다공증이 유발된 백서에서 비스포스포네이트에 의해 임플란트의 골융합이 오히려 향상되었다고 보고되었으며, Graziani 등¹³의 연구에서는 사라니 발치와의 치유에서 비스포스포네이트 투여군에서 더 많은 골생성이 되었음을 보고한 바 있다. 이러한 동물실험에서의 상반된 결과는 사용된 비스

Table 3. Empty lacunae (non-viable osteocyte) cell numbers counting in septum area & TRAP positive cell numbers counting in septum area

	Con	1 w EXP	2 w EXP	4 w EXP
Empty lacunae cell number	67 ± 6.25	132 ± 52.26	164.33 ± 18.58	172.33 ± 57.24
TRAP positive cell number	51 ± 15.71	50.33 ± 11.37	40.33 ± 10.69	39 ± 6.00

*Values are presented as mean ± standard deviation.

*No statistically significant difference was found in number of empty lacunae ($P=.077$) and number of TRAP positive cell ($P=.459$) between control group and experimental group.

Table 4. Genes that showed prominent disparity compared to control group

	Up regulation	Down regulation
Extraction	Atp7a Spink5 Ceacam1	Angpt1 Fig.f

Atp7a: ATPase, Cu⁺⁺ transporting, alpha polypeptide

Angpt1: angiopoietin 1

Fig.f: c-fos induced growth factor

Spink5_predicted: serine protease inhibitor, Kazal type 5 (predicted)

Ceacam1: CEA-related cell adhesion molecule1

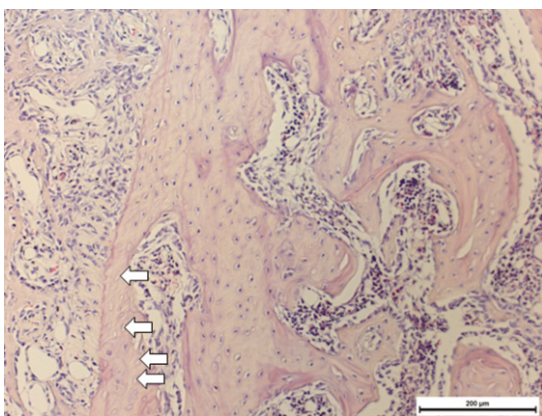


Fig. 5. Empty lacunae counting (Left: H&E, ×100): White arrows indicate empty lacunae.

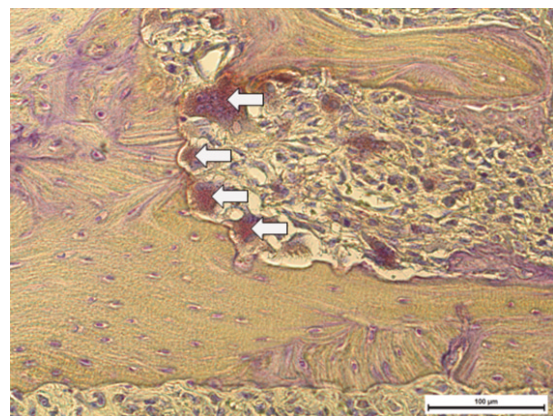


Fig. 6. TRAP positive cell counting (Right: TRAP, ×200): White arrows indicate TRAP positive cells.

포스포네이트 제제의 종류, 농도와 투여기간의 차이가 영향을 주었을 것이라고 예측할 수 있다. 또한, 실제 평가된 부위가 악골인지 아닌지도 영향을 주었을 것이다. 단순히 치유되고 있는 부위의 골량을 조직학적으로 측정하는 것으로는 그 부위의 정확한 골 활성을 보여주지는 못한다는 점도 간과해서는 안된다.

본 실험에서는 비스포스포네이트 제제 중 알렌드로네이트를 이용하였고 1.0 mg/kg의 농도로 투여기간을 달리하였을 때 악골의 발치와 치유에 미치는 영향에 대해 알아보하고자 하였다.

동물실험 등에서 평가시점의 차이에 따라서도 약효의 영향은 다양할 수 있다. 초기 치유에서의 영향과 최종적인 치유 이후에서의 영향이 서로 다를 수 있는데 이전 Hikita 등⁹의 연구에서 비스포스포네이트 투여시 발치 후 1주 시점에서 초기 치유의 지연이 있었다고 보고하고 있다. 또한 Iizuka 등²⁰은 골골 세포의 기능을 저하시킨 유전자를 가진 백서에서 발치와의 치유가 지연되어 감염이 나타났음을 보고하고 있다. 따라서 초기 발치와의 치유지연단계에서 감염이나 환경적인 영향이 있을 경우 골 괴사가 일어날 수 있을 가능성을 예측할 수 있다. 본 연구에서는 발치 후 1주 시점에서 초기 치유에 미치는 영향에 대해서 분석하고자 하였다. 발치 외상 이후 발치와 주변으로 100-500 μ m 까지 손상이 있을 수 있기에 본 연구에서는 300 μ m 까지 관심영역으로 설정하였다.²¹

본 예비연구에서는 비스포스포네이트 투여기간이 증가함에 따라서 유의하지는 않지만 발치 후 1주 시점에서의 치유가 지연되는 경향이 있었음을 알 수 있다. 이는 선행연구 Hikita 등⁹의 연구와 유사함을 알 수 있었다. 또한 비스포스포네이트에 의해 활성을 잃은 골세포(osteocyte)가 실험군에서 더 많았음을 관찰 할 수 있었는데 이전의 Miettien 등¹⁴의 연구에서 비스포스포네이트에 의해 임플란트 주위에 bone stock이 더 많았다는 연구 결과와 유사하다고 볼 수 있다. 이는 발치나 임플란트 시술 등에서의 외상으로 인해 유발되는 손상받은 골들이 주변에 오래 남아있는 양상이 나타났다는 것이다. 기존 연구에 의하면 외상에 의해 활성을 잃은 골세포들이 발치와 주변에 나타나게 되는데 정상적인 치유의 과정을 거치면서 활성을 잃은 골들이 줄어들게 된다고 하고 있다.^{24,25} Brennan 등²⁶의 연구에서는 비스포스포네이트 투여 시 미세균열(microcrack)이 많았음을 제시한 바 있다. 이러한 경우 적응력이 떨어질 수 있을 것이다.

비스포스포네이트가 임플란트에 미치는 영향에 관한 임상 연구를 보면 Grant 등²⁷은 경구용 비스포스포네이트는 임플란트에 나쁜 영향을 주지 않는다고 하였으나 Lazarovici 등⁵은 비스포스포네이트가 임플란트의 후기실패(late failure)와 연관이 있을 수 있다고 하였으며 경구용 비스포스포네이트 또한 임플란트에 나쁜 영향을 줄 수 있다고 하고 있다. 비스포스포네이트에 의해 활성을 잃은 골들이 나타나기 때문에 유발되는 것이라고 하고 있으나 아직은 논란이 되고 있다고 볼 수 있다.

비스포스포네이트 연관 악골괴사의 기전에 대하여 다양한 가설들이 제기되고 있지만 명확한 기전은 아직까지 밝혀지고 있지 않으며,²⁸ 따라서 비스포스포네이트 연관 악골괴사의 기

전을 밝히고 치유방법까지 제시하기 위해서는 적절한 동물실험 모델의 개발이 필요한 실정이다. 본 실험에서는 시편수가 작은 예비 실험이었다는 한계로 인해 유의한 차이를 보여주지는 못했지만, 비스포스포네이트 연관 악골괴사와 관련된 동물실험 모델을 개발하는 예비연구로서 더 다양한 연구를 위한 기초를 보여준다고 할 수 있으며 이후의 관련된 연구들에서는 골의 활성도를 평가할 수 있는 방법의 개발과 정량화를 위한 표준화가 필요하다는 점 또한 염두해 두어야 할 것이다.

결론

본 연구의 한계 안에서 발치 후 1주 시점에서의 발치와 내에서의 신생골의 생성 비율은 대조군보다(16.77% \pm 1.36%) 4주 투여군(14.99% \pm 6.26%)에서 더 낮게 나오는 경향은 있었지만 유의하지는 않았다. 투여기간이 증가할수록 활성을 잃은 골수강(empty lacuna)의 수는 증가하였고, TRAP positive cell 수는 감소하는 경향이 있으나 통계학적 유의차는 없었다. 향후 연구에서는 시편수를 늘리고, 골의 활성도를 평가할 수 있는 방법의 표준화를 통해 비스포스포네이트 제제의 투여기간이 발치와에 미치는 영향을 보다 정확하게 분석할 수 있으리라 사료된다.

References

1. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcène A, Devy L, Foidart JM, Castronovo V, Green JR. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302:1055-61.
2. Fournier P, Boissier S, Filleur S, Guglielmi J, Cabon F, Colombel M, Clézardin P. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res* 2002;62:6538-44.
3. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61:1115-7.
4. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62:527-34.
5. Lazarovici TS, Yahalom R, Taicher S, Schwartz-Arad D, Peleg O, Yarom N. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw associated with dental implants. *J Oral Maxillofac Surg* 2010;68:790-6.
6. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:1567-75.
7. Estilo CL, Van Poznak CH, Williams T, Bohle GC, Lwin PT, Zhou Q, Riedel ER, Carlson DL, Schoder H, Farooki A, Fornier M, Halpern JL, Tunick SJ, Huryn JM. Osteonecrosis of the maxilla and mandible in patients with advanced cancer treated with bisphosphonate therapy. *Oncologist* 2008;13:911-20.
8. Allen MR, Burr DB. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data. *J Oral*

- Maxillofac Surg 2009;67:61-70.
9. Hikita H, Miyazawa K, Tabuchi M, Kimura M, Goto S. Bisphosphonate administration prior to tooth extraction delays initial healing of the extraction socket in rats. *J Bone Miner Metab* 2009;27:663-72.
 10. Kobayashi Y, Hiraga T, Ueda A, Wang L, Matsumoto-Nakano M, Hata K, Yatani H, Yoneda T. Zoledronic acid delays wound healing of the tooth extraction socket, inhibits oral epithelial cell migration, and promotes proliferation and adhesion to hydroxyapatite of oral bacteria, without causing osteonecrosis of the jaw, in mice. *J Bone Miner Metab* 2010;28:165-75.
 11. Yamamoto Y, Udagawa N, Matsuura S, Nakamichi Y, Horiuchi H, Hosoya A, Nakamura M, Ozawa H, Takaoka K, Penninger JM, Noguchi T, Takahashi N. Osteoblasts provide a suitable microenvironment for the action of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand. *Endocrinology* 2006;147:3366-74.
 12. Tabuchi M, Miyazawa K, Kimura M, Maeda H, Kawai T, Kameyama Y, Goto S. Enhancement of crude bone morphogenetic protein-induced new bone formation and normalization of endochondral ossification by bisphosphonate treatment in osteoprotegerin-deficient mice. *Calcif Tissue Int* 2005;77:239-49.
 13. Graziani F, Rosini S, Cei S, La Ferla F, Gabriele M. The effects of systemic alendronate with or without intraalveolar collagen sponges on postextractive bone resorption: a single masked randomized clinical trial. *J Craniofac Surg* 2008;19:1061-6.
 14. Miettinen SS, Jaatinen J, Pelttari A, Lappalainen R, Mönkkönen J, Venesmaa PK, Kröger HP. Effect of locally administered zoledronic acid on injury-induced intramembranous bone regeneration and osseointegration of a titanium implant in rats. *J Orthop Sci* 2009;14:431-6.
 15. Viera-Negrón YE, Ruan WH, Winger JN, Hou X, Sharawy MM, Borke JL. Effect of ovariectomy and alendronate on implant osseointegration in rat maxillary bone. *J Oral Implantol* 2008;34:76-82.
 16. Kim JH, Park YB, Li Z, Shim JS, Moon HS, Jung HS, Chung MK. Effect of alendronate on healing of extraction sockets and healing around implants. *Oral Dis* 2011;17:705-11.
 17. Aguirre JI, Altman MK, Vanegas SM, Franz SE, Bassit AC, Wronski TJ. Effects of alendronate on bone healing after tooth extraction in rats. *Oral Dis* 2010;16:674-85.
 18. Pereira MC, Zecchin KG, Campagnoli EB, Jorge J. Ovariectomy delays alveolar wound healing after molar extractions in rats. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65:2248-53.
 19. Chacon GE, Stine EA, Larsen PE, Beck FM, McGlumphy EA. Effect of alendronate on endosseous implant integration: an in vivo study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64:1005-9.
 20. Kurth AH, Eberhardt C, Müller S, Steinacker M, Schwarz M, Bauss F. The bisphosphonate ibandronate improves implant integration in osteopenic ovariectomized rats. *Bone* 2005;37:204-10.
 21. Otto S, Abu-Id MH, Fedele S, Warnke PH, Becker ST, Kolk A, Mücke T, Mast G, Köhnke R, Volkmer E, Haasters F, Lieger O, Iizuka T, Porter S, Campisi G, Colella G, Ploder O, Neff A, Wiltfang J, Ehrenfeld M, Kreuzsch T, Wolff KD, Stürzenbaum SR, Schieker M, Pautke C. Osteoporosis and bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw: not just a sporadic coincidence-a multi-centre study. *J Craniomaxillofac Surg* 2011;39:272-7.
 22. Iizuka T, Miller SC, Marks SC Jr. Alveolar bone remodeling after tooth extraction in normal and osteopetrotic (ia) rats. *J Oral Pathol Med* 1992;21:150-5.
 23. Kenzora JE, Steele RE, Yosipovitch ZH, Glimcher MJ. Experimental osteonecrosis of the femoral head in adult rabbits. *Clin Orthop Relat Res* 1978;(130):8-46.
 24. Futami T, Fujii N, Ohnishi H, Taguchi N, Kusakari H, Ohshima H, Maeda T. Tissue response to titanium implants in the rat maxilla: ultrastructural and histochemical observations of the bone-titanium interface. *J Periodontol* 2000;71:287-98.
 25. Shimizu M, Furuya R, Kawawa T, Sasaki T. Bone wound healing after maxillary molar extraction in ovariectomized aged rats: quantitative backscattered electron image analysis. *Anat Rec* 2000;259:76-85.
 26. Brennan O, Kennedy OD, Lee TC, Rackard SM, O'Brien FJ. Effects of estrogen deficiency and bisphosphonate therapy on osteocyte viability and microdamage accumulation in an ovine model of osteoporosis. *J Orthop Res* 2011;29:419-24.
 27. Grant BT, Amenedo C, Freeman K, Kraut RA. Outcomes of placing dental implants in patients taking oral bisphosphonates: a review of 115 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2008;66:223-30.
 28. Allen MR. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: moving from the bedside to the bench. *Cells Tissues Organs* 2009;189:289-94.

알렌드로네이트의 투여기간이 발치와의 치유에 미치는 영향: 예비실험

김지환^{1,2†} · 홍종환^{1†} · 최현민¹ · 박영범^{1,2} · 문홍석^{1,2*}연세대학교 치과대학¹보철학교실, ²부설 구강과학연구소**연구 목적:** 본 연구에서는 알렌드로네이트 투여기간의 차이가 백서의 상악 제 1대구치 발치와의 초기 창상치유에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.**연구 재료 및 방법:** 4주령 Sprague Dawley Rat (Body weight 130-140 g) 15마리를 이용하여 알렌드로네이트(Merial Inc., Parramatta, Australia) 투여군(실험군)과 투여하지 않은 대조군으로 나누고 실험군은 다시 투여기간에 따라 1주 투여군부터 2주 투여군, 4주 투여군, 6주 투여군까지 총 4개의 실험군으로 나눴다. 실험군에 정해진 시기(발치 5주 전, 발치 3주 전, 발치 1주 전, 발치 시)부터 발치 1주 후까지 알렌드로네이트를 1mg/kg의 농도로 주 3회 피하주사 한 후 6주 투여군과 대조군에서 한 개체씩을 이용하여 미세배열(microarray)분석을 실시하였고, 다른 시편들을 이용하여 조직학적 분석을 시행하였다. 발치와 내에서의 신생골의 형성 비율과 발치와 주위 골에서 활성을 잃은 뼈에 대해 분석하였고, 파골세포 표지자인 TRAP 염색을 하여 분석하였다. 통계적인 분석으로 크루스칼-왈리스 검정(Kruskal Wallis test)을 실시하였다($\alpha=0.05$).**결과:** 발치 후 1주 시점에서 발치와 내에서의 신생골의 생성 비율은 대조군보다 (16.77% \pm 1.36%) 4주 투여군(14.99% \pm 6.26%)에서 더 낮게 나오는 경향은 있었지만 유의하지는 않았다. 투여기간이 증가할수록 활성을 잃은 골수강(empty lacuna)의 수는 증가하였고, TRAP positive cell 수는 감소하는 경향이 있으나 유의하지는 않았다.**결론:** 본 예비실험을 통해서 알렌드로네이트의 투여기간이 증가할수록 신생골의 생성 비율이 감소되고 활성을 잃은 뼈들이 많아지며 파골세포의 수는 줄어드는 경향이 있음을 알 수 있었으나 통계적으로 유의차는 없었다. (대한치과보철학회지 2013;51:175-82)**주요단어:** 알렌드로네이트; 비스포스포네이트; 발치와; 비스포스포네이트 연관 약골괴사; 창상치유

*교신저자: 문홍석

120-752 서울특별시 서대문구 연세로 50 연세대학교 치과대학 치과보철학교실

02-2228-3155: e-mail, hsm5@yuhs.ac

원고접수일: 2013년 6월 13일 / 원고최종수정일: 2013년 7월 1일 / 원고채택일: 2013년 7월 10일

© 2013 대한치과보철학회

© 이 글은 크리에이티브 커먼즈 코리아 저작자표시-비영리 3.0 대한민국 라이선스에 따라 이용할 수 있습니다.

*본 연구는 2012년도 연세대학교 치과대학 교내연구비 지원에 의해 수행되었음(6-2012-0064).

†이 저자들은 본 연구에 동일한 기여를 하였음.