

## 탈구치의 alendronate 도포가 재식 후 염증반응에 미치는 효과

최성철 · 이금호

경희대학교 치과대학 소아치과학교실

### 국문초록

본 연구는 탈구치에 대한 alendronate(ALN)도포가 자연재식모델에 있어 염증반응의 억제에 미치는 효과를 관찰하고자 태생 6주된 54마리 SD Rat의 상악 제 1 대구치를 재식하였다. 실험군은 15분 자연건조 후에 즉시 재식군(I군), 60분 자연건조 후 HBSS 도포군(II군) 그리고 60분 자연건조 후 ALN 도포군(III군)으로 분류하였으며 각 군 간의 치근의 염증성 흡수상태, 치근의 대치성 흡수정도, 염증의 정도, 그리고 치주인대의 치유정도를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. I군은 II, III군에 비하여 염증의 정도나 치근의 염증성 흡수정도 등 전반적인 염증반응이 적었고, 치주조직의 재부착 및 재생의 정도가 가장 높았다.
2. II군에서는 전반적으로 염증이 가장 심하였으며, 치근흡수 또한 광범위하였다.
3. III군은 II군에 비하여 치근면에 국소적인 염증반응이 나타났으며, 치근의 염증성 흡수 또한 국소적으로 발생하였다 ( $p < 0.001$ ). I군에 비하여 치주조직의 염증반응은 증가하였으나 ( $p < 0.05$ ) 염증성흡수와 대치성흡수에 있어서는 유의성이 없었다.
4. 각 군에서 대치성흡수의 양상은 크게 차이가 나지 않았으며, 시간의 경과에 따라 약간의 증가가 있었으나 유의성은 없었다.

이상의 결과로부터 탈구치가 구강 외에서 장시간 건조되었을 경우 ALN의 사용은 치근흡수를 억제하고 치주조직의 재생에 유용하다는 것을 알 수 있었다. ALN은 치아의 탈구시에 사용되는 여러 약제들의 대체품으로 사용할 수 있으며, 향후 추가적인 연구를 통하여 탈구치의 재식시 ALN 사용을 위한 적절한 용량과 도포용제제의 개발을 통하여 치아의 재식시 쉽게 사용할 수 있도록 연구 개발이 필요할 것으로 생각된다.

**주요어 :** 치아 탈구, 재식, Alendronate, 치주인대 치유

### I. 서 론

탈구된 치아의 재식시 재식치아의 예후는 여러 가지 요소에 의하여 결정된다. 탈구된 치아를 즉시 재식하거나, 치근에 부착된 치주조직을 보존할 수 있는 적당한 용액에 저장하였을 경우

재식의 성공률을 높일 수 있다<sup>1,4)</sup>. 또한 탈구된 치아와 치조골 내의 감염 유무, 주변 치주인대의 기계적인 외상, 탈수 등의 치주인대세포의 생활력에 영향을 미치는 다른 요소들에 의하여 재식치아의 예후는 불량해질 수 있다<sup>5,6)</sup>. 이 중에서 가장 중요한 요소는 재식시까지의 경과시간과 탈구된 치아의 저장 상태이다<sup>7)</sup>.

만약 탈구된 치아의 즉시 재식이 불가능하거나 저장상태가 적당하지 않고 골 대체 반응이 불가피하다면, 가능한 한 치근흡수를 억제하거나 그 흡수의 속도를 줄여 정상적인 치주인대의 재생과 재부착이 이루어지도록 하여야 한다. 이러한 치료를 위하여 많은 연구와 노력이 이루어지고 있다. 치주인대 세포의 생활력 유지를 위하여 식염수<sup>1)</sup>, 우유<sup>3)</sup>, Hanks' Balanced Salt

교신저자 : 이금호

서울특별시 동대문구 회기동  
경희대학교 치과대학 소아치과학교실  
Tel: 02-958-9371  
E-mail: ikeungho@khu.ac.kr

Solution(HBSS)<sup>4)</sup> 및 Viaspan<sup>®</sup> 등과 같은 저장매체를 사용하였으며, 재식 후 염증 억제제를 위하여 불화주석과 tetracycline<sup>9)</sup> 및 minocycline<sup>10)</sup> 등과 같은 약제를 사용하였다. 이밖에 파골세포나 성장인자의 조절을 위하여 Vitamin C<sup>11)</sup>, dexamethasone과 Bone morphogenetic proteins<sup>12)</sup>, fibroblast growth factor<sup>13)</sup> 등과 같은 제재의 사용이 지연 재식시에 나타나는 염증성 치유 과정을 조절하였다. 최근 많은 연구에서 Enamel matrix derivative(Emdogain<sup>®</sup>)의 사용이 치주조직의 치유에 도움이 되며, 특히 대치성흡수를 억제시키는데 유용하다고 보고하고 있다<sup>14-16)</sup>.

Alendronate(ALN)는 bisphosphonate 복합체로 골다공증<sup>17)</sup>, Paget병<sup>18)</sup>, 원발성 갑상선기능항진증<sup>19)</sup> 및 뼈의 골용해성 악성 질환과 같은 파골세포와 연관된 병적인 경조직흡수 질환에 사용되고 있다. ALN는 파골세포 전구세포의 증식과 순환을 억제하여 이차적으로 대식세포나 파골세포의 세포자멸사를 유도하여 파골세포의 수를 감소시킨다<sup>20-22)</sup>.

치의학 분야에서도 ALN을 이용하여 치조골 또는 치근의 흡수를 억제시키고자 하는 많은 연구들이 있었다<sup>24-28)</sup>. 또한 일부 연구에서는 ALN이 골형성에도 영향을 미치는 것으로 보고한 바 있다<sup>23)</sup>. Lekic 등<sup>24)</sup>은 bisphosphonate가 치주인대세포의 분화를 조절하며, 치조골과 백악질의 생성을 촉진한다고 보고하였다. Kaynak 등<sup>25)</sup>은 백서의 구치부 점막성 골막의 판막수술시에 ALN의 도포가 주위골의 흡수를 억제시킨다고 하였으며, Lustosa-Pereira 등<sup>26)</sup>은 쥐의 전치부 치아의 지연 재식시 ALN 도포가 치근단의 염증을 감소시킨다고 보고하였다. Levin 등<sup>27)</sup>은 개의 치아를 지연 재식하는 실험에서 치근면을 ALN으로 도포하였을 경우 치근흡수를 억제하는데 좋은 결과를 보인다고 하였고, Shinohara 등<sup>28)</sup>은 쥐의 구치부 치아를 즉시 재식하였을 때, ALN 도포가 치주인대의 재생 및 정상기능 회복에 있어서 더 나은 결과를 보인다고 하였다.

이에 본 연구는 완전탈구된 백서 치아의 재식시에 나타나는 염증반응을 관찰하고, ALN의 도포가 지연재식모델에 있어서 염증반응의 억제에 미치는 효과를 관찰하여 완전탈구된 치아의 임상적 치료의 기초가 되고자 하였다.

## II. 실험대상 및 방법

### 1. 실험동물 및 분류

생후 6주된 체중 200-250g의 웅성 백서(Sprague Dawley rat, Semtaco, Korea) 54마리의 상악 좌측 제 1대구치를 발거하여 재식 하였다. 재식전 치근의 처치방법에 따라 다음과 같이 세 군으로 나누었다.

- 제 I 군 - 발치 후 15분간 실온에서 자연건조시킨 후 근관치료와 치근면 처치없이 재식한 군.
- 제 II 군 - 발치 후 실온에서 60분간 자연건조시키는 동안 근관치료를 시행한 후 치근면을 pH 1의 포화 구연

산 용액 50 ml에 3분간 담가 치주인대를 제거하고 0.9% 생리 식염수 50 ml에 2분간 씻어낸 후 HBSS에 10분간 침전시키고 재식한 군.

- 제 III 군 - 발치 후 실온에서 60분간 자연건조시키는 동안 근관치료를 시행한 후 치근면을 pH 1의 포화 구연산 용액 50 ml에 3분간 담가 치주인대를 제거하고 0.9% 생리 식염수 50 ml에 2분간 씻어낸 후 1 mM 농도의 ALN을 첨가한 HBSS에 10분간 침전시키고 재식한 군.

각 실험군에 18마리씩 배정하고, 조직학적 관찰을 위하여 재식 후 7일, 15일, 30일에 각 6마리씩 희생시켜 관찰하였다.

### 2. 실험동물의 처치

상악 제 1 대구치를 발거하기 5일 전부터 0.4%  $\beta$ -amino propionitrile( $\beta$ -APN, Chemical Co., Sigma, USA)을 함유한 purima 분말을 공급하여 발거를 쉽게 할 수 있도록 조치하였다. 발거시 마취는 Zoretol 50(Virbac laboratoires, France)를 50-75 gm/kg로 하였고, 백서의 구강을 2% 클로르헥시딘 용액으로 소독하였으며, 특별히 고안된 발치겸자로 상악 좌측 제 1 대구치를 발거하였다. 발거된 치아를 실온에서 자연건조시키기 위하여 치관의 교합면을 pink wax sheet에 고정시켰다.

제 II군과 III군은 근심협측근을 중심으로 통법의 근관치료를 시행한 후 Caviton(Dentzply, Switzerland)으로 가압충전하였다.

### 3. 실험동물의 희생 및 표본 제작

Zoretol 50 마취하에 실험동물의 가슴을 절개하여 심장을 노출시킨 후 하대정맥과 동맥을 결찰하고, 양쪽 목 정맥을 절개하였다. 좌심실에 20G 주사기를 삽입시키고 0.9% 생리식염수 50ml로 동물의 피를 흘려버린 뒤 10% 포르말린 40ml를 심장을 통해 관류 고정한 후 상악턱뼈를 적출하였다.

적출한 상악턱뼈는 10% EDTA 0.1 M 인산 완충용액으로 3주간 탈회한 후, 자당에 2일간 담근 뒤 cryotomy를 하여 상악 제 1대구치를 시상면에서 근원심 방향으로 20-25 $\mu$ m두께로 절단하였으며, 치근과 치근침이 잘 연결된 조직을 선택하여 광학현미경 관찰을 위해 표본을 제작하고 hematoxylin-eosin염색을 시행하였다.

### 4. 조직학적 관찰

광학현미경을 이용하여 각 군별로 치근의 염증성흡수 정도, 대치성흡수 정도, 치주인대 상태, 염종의 정도를 관찰하였다. 각각의 상태는 통계적 유의성을 구하기 위하여 점수를 측정하였으며 각각의 평가 기준은 다음과 같다. 치근의 염증성 및 대

치성흡수 정도는 치근의 흡수정도에 따라 흡수가 없는 경우(0), 세포성 백악질의 부분 흡수(1), 세포성 백악질의 전반적인 흡수(2), 세포성 백악질과 상아질의 흡수(3)로 분류하였고, 염증의 정도는 각각 없음(0), 경미한 경우(1), 중등도인 경우(2), 중증인 경우(3)로 나눠 분류하였으며, 치주인대의 평가는 치주인대의 치근과의 결합정도와 치주인대의 방향에 따라 정상적인 회복(0), 경미한 손상(1), 중등도의 손상(2), 완전 손상(3)으로 분류하였다.

5. 통계분석

실험자료의 통계분석을 위하여 대조군과 각 군내에서의 희생 날짜별 차이를 비교하기 위하여 SAS의 proc glm procedure를 이용하여 매개변수를 측정된 뒤 ANOVA검사를 시행하였고, 각각의 군간의 비교는 대조 옵션을 통하여 시행하였다.

Ⅲ. 연구 성적

1. 염증성흡수의 비교

모든 군에서 초기에 세포성 백악질의 파괴가 주로 나타났으며 15일 이상의 시간이 경과된 군에서는 치근의 염증성 흡수가 정지하거나 염증이 심한 부위에서는 세포성 백악질의 파괴 후 광범위하게 상아질의 파괴가 나타났다. 각 그룹 간에는 염증성

치근흡수정도의 차이가 있는 것으로 나타났다( $p < 0.001$ ).

I군에서의 가장 큰 특징은 염증의 국소적인 발현이다(Fig. 2). 일부치아는 치근흡수가 일어나지 않았으며, 대부분의 치아에서 국소적인 부위에 미약한 염증성 치근 흡수가 나타났다. 7, 15, 30일 후에 희생한 군 간에는 약간의 염증성 치근흡수 증가가 있었으나, 큰 차이는 없었다. II군과 III군에서의 염증은 I군에 비하여 치근의 염증성 흡수가 많이 일어났다(Fig. 4, 8). 특히 II군의 경우 치근의 흡수가 광범위하게 발생하였으며 세포성 백악질의 흡수를 넘어 상아질까지의 흡수가 많이 일어났으며 경과시간에 따라 치근흡수가 더 많이 일어났다(Fig. 7). III군 또한 II군에서와 같이 대부분의 대상치아에서 치근흡수가 발생하였으나 치근흡수의 양상이 II군과 다르게 국소적인 염증반응이 주로 나타났다. 치근의 염증성 흡수의 양상은 III군에서 II군에 비하여 감소하는 것을 볼 수 있었으며( $p < 0.01$ ), I군과는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 1, 2).

2. 대치성 흡수의 비교

치근의 대치성 흡수는 백악질이나 상아질과 치주인대 사이에 직접적으로 골과 유사한 조직의 형성이 나타나거나, 치근의 흡수부위에 대치성으로 골과 유사한 형태의 조직이 나타났다(Fig. 7). 대치성 흡수에 있어서 각 그룹 간에는 큰 차이가 없이 나타났다. 또한 시간의 경과에 따른 차이도 약간의 증가는 있었으나 유의성이 없었다(Table 3, 4).

Table 1. Mean score of inflammatory root resorption in each groups

	Mean score	SD
Group I 7 days	0.83	0.98
Group I 15 days	0.67	0.52
Group I 30 days	1.33	0.75
Group II 7 days	1.83	1.17
Group II 15 days	2.17	0.75
Group II 30 days	2.17	0.98
Group III 7 days	1.17	0.75
Group III 15 days	1.33	0.52
Group III 30 days	1.33	0.82

Table 2. Model significancy test (ANOVA from GLM) and comparison test from GLM of inflammatory root resorption among groups and days

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Group	2	12.70	6.35	10.04	0.0002***
Day	1	0.70	0.70	1.11	0.2975
Comparison	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Group I VS Group II	1	12.25	12.25	19.36	<.0001***
Group I VS Group III	1	1.36	1.36	2.15	0.1487
Group II VS Group III	1	5.44	5.44	8.61	0.0050**

\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ , \*\*\* :  $p < 0.001$

3. 치주조직의 염증정도

I군에서의 염증반응은 경미하게 나타났으며, II군과 III에서

의 염증의 정도는 중등도 이상의 상태를 보였다. 염증의 정도는 I군에 비하여 II군, III군이 크게 나타났으며(p<0.001), I군과 III군 사이에서도 어느 정도의 차이가 있는 것으로 나타났다

**Table 3.** Mean score of replacement resorption(Ankylosis) in each groups

	Mean score	SD
Group I 7 days	0.17	0.41
Group I 15 days	0.50	0.84
Group I 30 days	0.33	0.82
Group II 7 days	0.17	0.41
Group II 15 days	0.33	0.82
Group II 30 days	0.83	1.33
Group III 7 days	0.17	0.41
Group III 15 days	0.17	0.41
Group III 30 days	0.50	0.84

**Table 4.** Model significancy test (ANOVA from GLM) and comparison test from GLM of replacement root resorption among groups and days

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Group	2	0.26	0.13	0.24	0.7854
Day	1	1.36	1.36	2.55	0.1169
Comparison	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Group I VS Group II	1	0.11	0.11	0.21	0.6502
Group I VS Group III	1	0.03	0.03	0.05	0.8205
Group II VS Group III	1	0.25	0.25	0.47	0.4970

\* : p<0.05 , \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001

**Table 5.** Mean score of inflammation severity in each groups

	Mean score	SD
Group I 7 days	1.33	0.52
Group I 15 days	1.17	0.41
Group I 30 days	1.83	0.41
Group II 7 days	2.33	0.52
Group II 15 days	2.67	0.52
Group II 30 days	2.50	0.55
Group III 7 days	1.67	0.52
Group III 15 days	1.83	0.41
Group III 30 days	2.00	0.63

**Table 6.** Model significancy test (ANOVA from GLM) and comparison test from GLM of inflammation severity among groups and days

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Group	2	10.26	5.13	24.64	<.0001***
Day	1	1.04	1.04	4.98	0.0301*
Comparison	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Group I VS Group II	1	10.03	10.03	48.17	<.0001***
Group I VS Group III	1	1.36	1.36	6.54	0.0136*
Group II VS Group III	1	4.00	4.00	19.22	<.0001***

\* : p<0.05 , \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001

**Table 7.** Mean score of Periodontal ligament healing in each groups

	Mean score	SD
Group I 7 days	1.33	0.52
Group I 15 days	1.33	0.52
Group I 30 days	1.67	0.52
Group II 7 days	2.17	0.75
Group II 15 days	2.33	0.52
Group II 30 days	2.17	0.75
Group III 7 days	2.00	0.63
Group III 15 days	2.33	0.52
Group III 30 days	2.17	0.42

**Table 8.** Model significancy test (ANOVA from GLM) and comparison test from GLM of states of periodontal ligament among groups and days

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Group	2	6.78	3.39	12.23	<.0001***
Day	1	0.19	0.19	0.71	0.4047
Comparison	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Group I VS Group II	1	5.44	5.44	19.64	<.0001***
Group I VS Group III	1	4.69	4.69	16.94	0.0001***
Group II VS Group III	1	0.03	0.03	0.10	0.7529

\* : p<0.05 , \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001

(p<0.05). III군은 I군에 비하여 염증의 정도는 증가하였지만, II군에 비해 현저히 감소하는 것을 볼 수가 있었다(p<0.001) (Table 5, 6).

4. 치주인대의 상태

I군은 치주조직의 치유가 빠르게 일어났으며, 백악질과 상아질에서의 치주인대의 치유와 재생이 정상적으로 이루어졌고, 섬유조직의 방향 또한 정상적인 기능을 하는 평형 섬유조직이 많이 나타났다(Fig. 1). 반면 치주인대를 완전 제거하고 재식한 II군과 III군에서는 정상적인 치주인대의 재생은 불완전하게 나타났다(Fig 6, 8). 치주인대의 결합 부위에 염증 조직이 많이 존재하였으며, 염증세포와 섬유조직에 의한 피막층이 많이 나타나 정상적인 치주인대의 부착이 억제되었다(Fig. 10). I군과 II, III군 간에는 치주인대의 치유에 있어서 통계학적인 유의성이 나타났다(p<0.001)(Table 7, 8).

IV. 총괄 및 고찰

치아의 완전탈구 후 재식을 바로 시행할 때 치조골내의 치주인대 섬유는 치아 표면으로 재부착되어 정상적인 기능을 할 수 있게 해준다. 그러나 완전탈구된 치아를 15분 이후에 재식하였을 경우에는 부분적인 치주인대의 손상으로 부분적인 치근의

흡수가 나타나며, 30분 건조 시 세포의 치명적인 손상이 발생하고, 60분가량 건조한 상황에서 두었을 경우 치근막의 괴사를 야기하여 광범위한 치근흡수를 보인다<sup>30-32)</sup>. 이러한 이유로 치아의 재식에 나타나는 염증반응에 관한 많은 연구에서 치아의 재식은 늦어도 15분 이내에 시행하는 것을 추천하고 있다<sup>1,2,7)</sup>. 치아를 재식할 경우 발생하는 주된 염증반응인 치조골과 치아의 흡수나 유착은 여러 동물들과 사람에게 따라 각기 다른 치유기간이 소요된다<sup>33)</sup>. 백서는 원숭이나 비글과 같은 동물들에 비하여 사육이 용이하고, 개체간의 유전적인 일관성이 있을 뿐만 아니라 그 대상을 증가시킬 수 있으며 다른 동물이나 사람과 달리 빠른 대사 과정을 가지므로 단기간 내에 전체적인 치유과정을 지켜볼 수 있는 장점이 있다. 그러나 이와 같이 빠른 대사 때문에 백서에서 완전탈구된 치아를 15분간 구강외에 두었을 경우 사람과는 다르게 백서에 있어서는 과다한 시간이 될 수 있다. Shibata 등<sup>34)</sup>은 백서의 제1대구치의 재식 실험에서 7-21일 사이에 치주조직이 점차적으로 회복되고 14일경부터 흡수와 유착이 발생하는 것으로 관찰하였다. 본 실험도 백서의 대사과정에 따른 염증반응을 보고자, 선학들의 연구에 기초하여 7일, 15일, 30일 간의 관찰 과정에 따라 시행하였다.

성공적인 치아재식 실험을 위해서 발거시, 치아나 주위조직에 외상이 없이 발거하여야한다. Cho와 Garant<sup>35,36)</sup>은 이를 위하여  $\beta$ -aminopropionitrile( $\beta$ -APN)을 사용하였는데  $\beta$ -APN은 치주인대 섬유의 amino oxidase를 억제시켜 콜라겐의  $\alpha$ -사

술 상에서 lysyl-derived aldehyde group의 형성을 저지함으로써, 콜라겐 분자의 교차결합이 차단되어 인장력이 감소돼 발거가 용이해진다고 보고하였으며, Barrington과 Meyer<sup>37)</sup>은  $\beta$ -APN 식이를 중지한 3일 후부터 치주인대가 다시 정상으로 회복되고 섬유 또는 세포에 가역적인 변화가 일어나며, 인장력 또한 교차 결합이 다시 형성되면서 원 상태로 회복된다고 보고하였다. 본 연구에서 6주 된 백서의 수컷을 대상으로  $\beta$ -APN을 구강내로 투여하여 치조골이나 주위 연조직에 가해지는 자극을 최소로 줄이면서 발거를 할 수 있게 하였다.

재식치아의 근관 치료에는 주로 수산화칼슘이나 corticosteroid-antibiotics등이 이용되고 있으며 이러한 약제들이 재식 후 근단부의 염증을 억제한다고 보고되고 있다<sup>38,39)</sup>. 권 등<sup>40)</sup>은 Caviton으로 근관 내를 완전히 밀봉하여 염증세포가 치근단 공을 넘어 치근면을 따라 치관부로 확산되는 것을 막아 실험의 오차를 줄여 재식에 의한 염증반응을 관찰하였다. 본 실험은 치근의 ALN 도포로 인한 염증의 억제를 관찰하기 위한 실험으로 근관치료 약제에 의한 영향을 배제하고, 근관내에서의 염증이 치주조직으로 유출되는 것을 막기 위하여 근관의 충전 및 밀봉 목적으로 Caviton을 사용하였다.

치아의 재식시 치주인대가 손상되거나 괴사되었을 경우, 간엽세포의 부착은 불가능하게 되며, 정상적인 부착이 이루어질 수 없다. 그러므로 재식시 괴사된 치주조직의 제거를 통하여 치주조직의 치유를 촉진하여야한다. 실험 치아의 치주인대를 제거하는 방법에 따라 치주인대의 치유 및 치근 흡수의 양상도 큰 차이를 보일 수 있다. 치주인대를 제거하는 방법에는 여러 가지 방법이 보고되고 있으며 치근 활택술이나 버를 이용한 기계적인 방법, 자연건조법<sup>41)</sup>, 액화질소와 같은 냉매를 치아에 적용시키는 방법<sup>42)</sup>, 구연산이나 과산화수소와 같은 약제를 사용하는 방법<sup>43-46)</sup> 등이 있다. pH 1의 포화구연산으로 2-3분 동안 치근면을 처치하는 것이 신생 결합조직의 부착을 촉진하며 내독소를 제거한다고 하였으며<sup>43)</sup>, 치근활택술 후 구연산으로 치근면을 처치하면 도말층을 제거하여 평활한 치근면을 나타내고, 상아세관을 노출시키고 확대하며, 다수의 섬유상 구조를 보여 치주인대의 재부착에 도움을 준다고 하였다<sup>44,45)</sup>. Polson과 Proye<sup>46)</sup>은 pH 1의 구연산으로 3분 동안 치근면을 처치하면 신생결합조직 부착이 이루어지는데 이는 교원섬유 기질이 섬유소 망의 부착을 촉진하여 상피세포의 하방 이동을 방지하기 때문이라고 하였다. 본 실험에서도 II군과 III군에서 pH 1의 구연산으로 3분 동안 치근면을 처치하여 자연재식되는 치아의 괴사된 치주인대를 제거하였다.

Bisphosphonates는 70년대부터 Paget씨 병이나 악성 종양에 의한 고칼슘혈증 또는 골다공증과 같은 골과 칼슘대사에 일어나는 질병을 치료하는 약제로 etidronate가 가장 널리 사용되었다<sup>46)</sup>. Alendronate는 80년대 중반부터 연구되었으며<sup>18,49)</sup>, 최근의 많은 연구들로 인하여 골의 밀도를 높이고 파절을 방지하는데 효과가 높은 것으로 인정되어 2000년도에 미국에서의 골다공증 치료제로서 승인을 받았다<sup>47)</sup>. 또한 원발성 갑상선기능

항진증 환자와 같이 골밀도가 떨어지는 환자에게 투여로 골의 전환율을 감소시킴으로써 골밀도를 증가시키는데 매우 유용하다고 보고하고 있다<sup>19)</sup>.

Bisphosphonate의 탄소와 두개의 피로인산이 phospho-ether 결합을 하며 이들은 골 기질에 친화성을 가진다. 이 bisphosphonate는 질소의 유무에 따라 두 가지로 나뉜다. Clodronate, etidronate 및 tiludronate 등과 같이 질소를 가지지 않는 종류와 alendronate, pamidronate, risedronate 및 olpadronate와 같은 질소를 포함하는 종류로 나뉜다. ALN과 같이 질소를 함유하고 있는 bisphosphonates는 mevalonate pathway를 억제함으로써 단백질의 prenylation을 손상시키며 이것은 파골세포의 GTPases의 기능에 영향을 주어 파골세포와 연관된 골흡수를 억제한다<sup>50)</sup>. 즉, ALN은 파골세포의 직접적인 세포자멸사를 야기하지는 않으나 파골세포내 운반체계를 억제하여 세포의 정상적인 생활에 영향을 준다<sup>50)</sup>. ALN으로 인한 파골세포의 변화로 파골세포의 접합부가 벌어지거나 결합부의 주름이 정상적으로 형성되지 않는 등의 골과의 긴밀한 접합에 영향을 미치며, 파골세포의 골 표면에서의 부분적인 분리 등이 나타난다.

ALN의 용해를 위하여 증류수, 식염수, HBSS, Viaspan 등의 용액을 생각할 수 있다. Pettiette 등<sup>8)</sup>은 30분 이상의 지연 재식시 Viaspan, 섬유아세포 배양액, HBSS의 사용을 비교 평가한 결과 섬유아세포 배양액과 HBSS는 효과가 없는 반면 Viaspan의 사용이 염증의 억제에 효과를 가진다고 하였다. Mattson 등<sup>47)</sup>은 지연재식시 증류수나 식염수는 탈구된 치아의 치수조직의 생활력을 연장시키는 기능은 있으나, 구강의 건조 시간이 길어질 경우 이러한 처치가 염증반응에 크게 영향을 주지 못한다고 하였다. HBSS는 세포 배양액으로 PDL의 생활력을 유지하는데 우수한 능력을 보이나, 지연재식된 치아의 염증을 억제하는 약리작용은 거의 없는 것으로 보고되고 있다<sup>25)</sup>. 본 실험에서는 HBSS의 사용을 통하여 재식의 효과를 기대하기 보다는, 치아의 재식시에 재식치아가 생체와 유사한 조건을 형성하여 재식시에 일어나는 염증 반응을 줄일 수 있다는 가정 하에 사용하였다.

치아의 외상시에 치아를 즉시 재식하는 경우는 드물게 나타난다. 특히 어린이에게 있어 외상은 본인이 직접 어떠한 처치를 하기보다는 보호자나 학교 선생님 등의 다른 사람을 통하여 이루어진다. 이런 경우 시간의 경과를 무시할 수 없으며, 기본적으로 치아의 재식시에 추천하는 15분 내의 재식을 기본 대조군으로 삼았다. 15분 내의 즉시 재식이 이루어지지 않았을 경우, 치근면 흡수를 줄이거나 피하기 위하여 여러 가지 약제의 사용이 이루어지고 있다<sup>8-16)</sup>. 본 실험에서는 파골세포의 골흡수를 억제하여 재식 후 염증반응을 줄이고자 ALN을 이용하였다. ALN의 사용시 문제점은 과다투여시 상아질형성과 백악질형성을 억제하며, 소량투여시 그 효과가 미약하다고 알려져 있다<sup>51)</sup>. 따라서 본 연구는 기존의 연구에 기초하여 투여용량을 1mM로 설정하였다<sup>26,27,34)</sup>.

염증성흡수는 모든 군에서 치근침 1/3과 치근중양부 1/3에서 주로 발생하였다. I군에서는 흡수가 경미하게 나타났으며 세포성 백악질부위의 국소적인 치근흡수를 보였다. 시간의 경과에 따라 치근흡수의 증가는 있었으나 유의성은 없었다. 반면 II군에서는 치근흡수는 빠르게 일어났으며, 15, 30일 뒤 희생 시킨 군에서는 백악질과 상아질을 포함하는 광범위한 치근흡수가 나타났다. III군에서는 치근흡수의 양상이 국소적으로 나타났으며 시간의 경과에 따른 치근흡수 양상에서도 크게 증가하지 않는 것으로 나타났다. III군은 II군에 비하여 염증성치근흡수가 국소적이며 시간의 경과에 따른 흡수의 양도 현저히 감소되었다( $p<0.001$ ). I군에서의 치근흡수의 양과 비교시 차이가 나지 않는 것으로 나타났다. 이는 I군과 III군 간의 차이가 없기보다는 15분내의 재식이 사람에게는 치주조직의 치유에 좋은 영향을 주더라도 쥐에 있어서는 빠른 대사를 고려하였을 때 과도한 시간일 수 있기 때문에 사료된다. 치주조직의 염증정도에서는 I군에서 가장 적게 나타났으며 III군 II군순으로 나타났다. III군에서 염증의 정도는 II군에 비하여 감소하는 것으로 나타났다( $p<0.001$ ). 치주조직의 재생에 있어서는, I군과 II군, III군 간에는 큰 차이가 나타났으나( $p<0.001$ ), II과 III군 간에는 큰 차이가 없었다. 이는 치아의 재식시에 I군에서는 치주조직의 생활력이 남아 있기 때문에 정상적인 재생이 가능하며, 반면 II군과 II군에서는 치주조직의 괴사후 치주조직의 제거를 시행하여 치주인대의 정상적인 부착보다는 신생결합이 이루어져야 하는 문제가 있기 때문이라고 사료된다. 대치성 흡수는 세 군 간에 큰 차이는 보이지 않았다.

이상의 결과에서 치아를 바로 재식하지 못하고 구강 외에서 장시간 건조되었을 경우 ALN의 사용은 치근흡수를 억제하고 치주조직의 재생을 위한 시간을 만들어 주는 효과를 낳는데 유용하다는 것을 알 수 있었다. 또한 선학들의 연구들과 본 연구를 통하여 ALN은 치아의 탈구시에 사용되는 여러 약제들의 대체품으로 사용할 수 있을 것으로 사료된다. 향후 추가적인 연구를 통하여 치과에서의 탈구된 치아의 재식시 ALN 사용을 위한 적절한 용량의 측정이 필요하다고 생각되며, 더불어 주사제나 경구용 제제가 아닌 도포용제제의 개발을 통하여 치아의 재식시 쉽게 사용할 수 있도록 많은 연구 개발이 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

본 연구는 탈구치에 대한 ALN도포가 자연재식모델에 있어 염증반응의 억제에 미치는 효과를 관찰하고자 태생 6주된 54마리 SD Rat의 상악 제 1 대구치를 재식하였다. 실험군은 15분 자연건조 후에 즉시 재식군(I군), 60분 자연건조 후 HBSS 도포군(II군) 그리고 60분 자연건조 후 ALN 도포군(III군)으로 분류하였으며 각 군 간의 치근의 염증성 흡수상태, 치근의 대치성 흡수정도, 염증의 정도, 그리고 치주인대의 치유정도를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. I군은 II, III군에 비하여 염증의 정도나 치근의 염증성 흡수정도 등 전반적인 염증반응이 적었고, 치주조직의 재부착 및 재생의 정도가 가장 높았다.
2. II군에서는 전반적으로 염증이 가장 심하였으며, 치근흡수 또한 광범위하였다.
3. III군은 II군에 비하여 치근면에 국소적인 염증반응이 나타났으며, 치근의 염증성 흡수 또한 국소적으로 발생하였다( $p<0.001$ ). I군에 비하여 치주조직의 염증반응은 증가하였으나( $p<0.05$ ) 염증성흡수와 대치성흡수에 있어서는 유의성이 없었다.
4. 각 군에서 대치성 흡수의 양상은 크게 차이가 나지 않았으며, 시간의 경과에 따라 약간의 증가가 있었으나 유의성은 없었다.

## 참고문헌

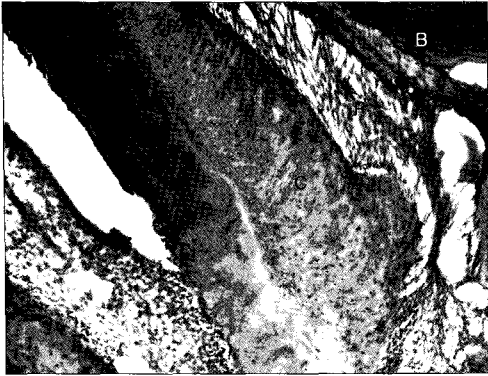
1. Andreasen JO, Andreasen FM : Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth. 3rd edn. Munksgaard Publishers, 1994.
2. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, et al. : Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 4. Factors related to periodontal ligament healing. Endod Dent Traumatol, 11:76-89, 1995.
3. 김광철, 이공호 : 완전탈구된 치아의 보관방법에 따른 재식 후 치주인대 회복과 섬유아세포의 변화에 관한 연구. 대한 소아치과학회지, 16(1):36-56, 1989.
4. Trope M, Friedman S : Periodontal healing of replanted dog teeth stored in Viaspan, milk and Hank's balanced salt solution. Endod Dent Traumatol, 8:183-188, 1992.
5. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, et al. : Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 1. Diagnosis of healing complications. Endod Dent Traumatol, 11:51-58, 1995.
6. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, et al. : Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 2. Factors related to pulpal healing. Endod Dent Traumatol, 11:59-68, 1995.
7. Andersson L, Bodin I : 1. Avulsed human teeth replanted within 15 minutes - a long-term clinical follow-up study. Endod Dent Traumatol, 6:37-42, 1990.
8. Pettiette M, Hupp J, Mesaros S, et al. : Periodontal healing of extracted dogs' teeth air-dried for extended periods and soaked in various media. Endod Dent Traumatol, 13:113-118, 1997.
9. Selvig KA, Bjorvatn K, Claffey N : Effect of stannous

- floride and tetracycline on repair after delayed re-plantation of root planed teeth in dogs. *Acta Odontol Scand*, 48:107-112, 1990.
10. Khin MM, Sae-Lim V : The effect of topical minocycline on replacement resorption of replanted monkeys' teeth. *Dent Traumatol*, 19: 96-102, 2003.
  11. Panzarini SR, Perri de Carvalho AC, Poi WR, et al. : Use of vitamin C in delayed tooth replantation. *Braz Dent J*, 16(1):17-22, 2005.
  12. Keum KY, Kwon OT, Spangberg LS, et al. : Effect of dexamethasone on root resorption after delayed replantation of rat tooth. *J Endod*, 29(12):810-813, 2003.
  13. Sae-Lim V, Ong WY, Li Z, et al. : The effect of basic fibroblast growth factor on delayed-replanted monkey teeth. *J Periodontol*, 75(12): 1570-1578, 2004.
  14. Iqbal MK, Bamaas NS : Effect of enamel matrix derivative (EMDOGAIN) upon periodontal healing after replantation of permanent incisors in Beagle dogs. *Dent Traumatol*, 17:36-45, 2001.
  15. Lam K, Sae-Lim V : The effect of Emdogain gel on periodontal healing in replanted monkeys' teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 97(1):100-107, 2004.
  16. Ç aglar E, Tanboga I, Süsal S : Treatment of avulsed teeth with Emdogain® - a case report. *Dent Traumatol*, 21: 517-53, 2005.
  17. Ringe JD, Faber H, Dorst A : Alendronate treatment of established primary osteoporosis in men: results of a 2-year prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(11):5252-5255, 2001.
  18. Khan SA, Vasikaran S, McCloskey EV, et al. : Alendronate in the treatment of Paget's disease of bone. *Bone*, 20(3):263-271, 1997.
  19. Khan AA, Bilezikian JP, Kung AW, et al. : Alendronate in primary hyperparathyroidism : a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(7):3319-3325, 2004.
  20. Alakangas A, Selander K, Mulari M, et al. : Alendronate disturbs vesicular trafficking in osteoclasts. *Calcif Tissue Int*, 70(1):40-47, 2002.
  21. Colucci S, Minielli V, Zambonin G, et al. : Alendronate reduces adhesion of human osteoclast-like cells to bone and bone protein-coated surfaces. *Calcif Tissue Int*, 63:230-235, 1998.
  22. Vitte C, Fleisch H, Guenther HL : Bisphosphonates induce osteoblasts to secrete an inhibitor of osteoclast-mediated resorption. *Endocrinology*, 137:2324-2333, 1996.
  23. 이인순, 김현정, 류현모, et al. : Bisphosphonate가 조골 세포 분화에 미치는 영향. *대한소아치과학회지*, 27(2): 309-317, 2000.
  24. Lekic P, Rubbino I, Krasnoshtein F, et al. : Bisphosphonate modulates proliferation and differentiation of rat periodontal ligament cells during wound healing. *Anat Rec*, 247(3):329-40, 1997.
  25. Kaynak D, Meffert R, Günhan G, et al. : A histopathological investigation on the effects of the bisphosphonate alendronate on resorptive phase following mucoperiosteal flap surgery in the mandible of rats. *J Periodontol*, 71:790-796, 2000.
  26. Lustosa-Pereira A, Garcia RB, de Moraes IG, et al. : Evaluation of the topical effect of alendronate on the root surface of extracted and replanted teeth. Microscopic analysis on rats' teeth. *Dent Traumatol*, 22:30-35, 2006.
  27. Levin L, Bryson EC, Caplan D, et al. : Effect of alendronate on root resorption of dried replanted dog teeth. *Dent Traumatol*, 17:120-126, 2001.
  28. Shinohara J, Shibata T, Shimada A, et al. : The biomechanical properties of the healing periodontium of replanted rat mandibular incisors. *Dent Traumatol*, 20:212-221, 2004.
  29. Cengiz SB, Batirbaygil Y, Onur MA, et al. : Histological comparison of alendronate, calcium hydroxide and formocresol in amputated rat molar. *Dent Traumatol*, 21:281-288, 2005.
  30. Lindskog S, Blomlof L, Hammarstrom L : Mitosis and microorganisms in the periodontal membrane after storage in milk or saliva. *Scand J Dent Res*, 91: 465-472, 1983.
  31. Blomlof L, Andersson L, Lindskog S, et al. : Periodontal healing of replanted monkey teeth prevented from drying. *Acta Odontol Scand*, 41:117-123, 1983.
  32. Soder P-O, Otteskog P, Andreasen JO, et al. : Effect of drying on viability of periodontal membrane. *Scand J Dent Res*, 85:167-168, 1977.
  33. Selvig KA, Bjorvatn K, Bogle GC, et al. : Effect of stannous fluoride and tetracycline on periodontal repair after delayed tooth replantation in dogs. *Scand J Dent Res*, 100:200-203, 1992.
  34. Shibata T, Komatsu K, Shimada A, et al. : Effects of alendronate on restoration of biomechanical prop-

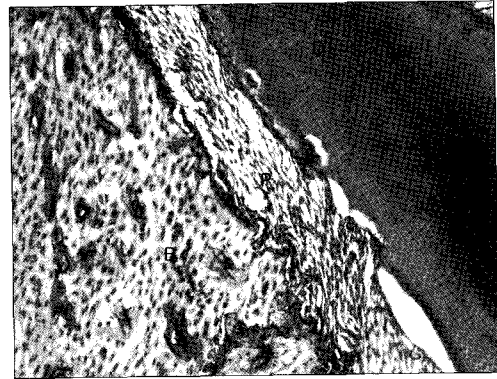


- erties of periodontium in replanted rat molars. *J Periodont Res*, 39:405-414, 2004.
35. Cho MI, Garant PR : The effect of beta-aminopropionitrile on the periodontal ligament : I. ultra-structure of fibroblast and matrix. *J Periodont Res*, 19:247-260, 1984.
  36. Cho MI, Garant PR : The effect of beta-aminopropionitrile on the periodontal ligament : II. Radioautographic study of collagen secretion from fibroblast. *The Anatomical Record*, 209:41-52, 1984.
  37. Barrington EP, Meyer J : Recovery of the rat dental organ from experimental lathyrisms. *Scan J Dent Res*, 75:11-25, 1967.
  38. 문상희, 김왕근, 이창섭, *et al.* : 재식한 치아에서 수산화칼슘을 사용한 근관치료. *대한소아치과학회지*, 26(1):96-102, 1999.
  39. Thong YL, Messer HH, Siar CH, *et al.* : Periodontal response to two intracanal medicaments in replanted monkey incisors. *Dent Traumatol*, 17(6):254-259, 2001.
  40. 권오택, 금기연, 이승종 : 흰 쥐 모델에서 자연재식 시 dexamethasone과 OP-1의 표면처리가 치주조직 재생 및 항흡수 작용에 미치는 효과. *대한치과보존학회지*, 26(4):296-306, 2001.
  41. Andreasen JO, Kristerson L : The effect of limited drying or removal of periodontal ligament. *Acta Odontol Scand*, 39:1-13, 1981.
  42. Wessellink PR, Beertsen W, Everts V : Resorption of the mouse incisor after the application of cold to the periodontal after the application of cold to the periodontal attachment-apparatus. *Calcif Tissue Int*, 39:11-21, 1986.
  43. Register AA, Burdick FA : Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. *J Periodontol*, 46:646-655, 1975.
  44. Garrett JS, Crigger M, Egelberg J : Effects of citric acid on diseased root surfaces. *J Periodont Res*, 13:155-163, 1978.
  45. Larjava H, Salonen J, Häkkinen L, *et al.* : Effect of citric acid treatment on the migration of epithelium on root surfaces in vitro. *J Periodontol*, 59:95-99, 1988.
  46. Polson AM, Proye MP : Effect of root surface alterations on periodontal healing: II. Citric acid treatment of the denuded root. *J Clin Periodontol*, 9:441-454, 1982.
  47. Mattson L, Andreasen JO, Cvek M, *et al.* : Ankylosis of experimentally replanted teeth related to extra-alveolar period and storage environment. *Pediatr Dent*, 4:327-329, 1982.
  48. Gibbs CJ, Aaron JE, Peacock M : Osteomalacia in Paget's disease treated with short term, high dose etidronate. *Br Med J*, 292:1227-1229, 1986.
  49. Adami S, Salvagno G, Guarrera G, *et al.* : Treatment of Paget's disease of bone with intravenous 4-amino-1-hydroxybutylidene-1,1-bisphosphonate. *Calcif Tissue Int*, 39:226-229, 1986.
  50. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, *et al.* : Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res*, 13:581-589, 1998.
  51. Beersten W, Niehof A, Everts V : Effects of 1-hydroxy-ethylidene-1, 1 bisphosphonate (HEBP) on the formation of dentin and the periodontal attachment apparatus in the mouse. *Am J Anat*, 174:83-103, 1985.

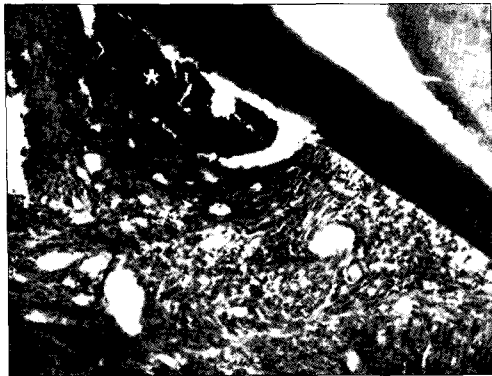
사진부도 ①



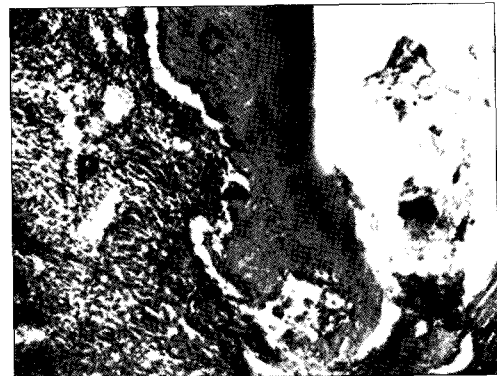
**Fig. 1.** Group I (7days): A photomicrograph showing normal regeneration of periodontal ligament. Black asterisk indicates overgrowth of cellular cementum. H&E ( × 100)



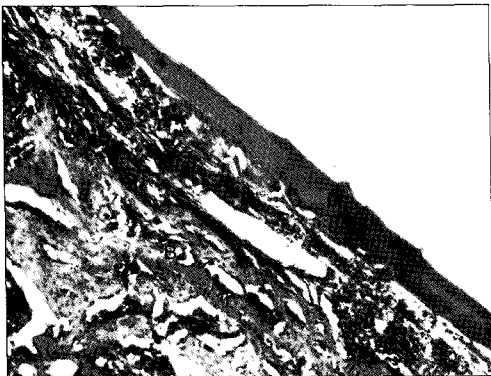
**Fig. 2.** Group I (15days): A photomicrograph showing normal regeneration of periodontal ligament. Black asterisk indicates osteoclast cells resorb root surface. H&E ( × 100)



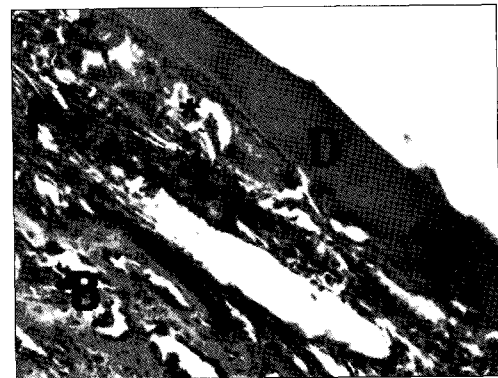
**Fig. 3.** Group I (30days): A photomicrograph showing many inflammatory cells(white asterisk) and regeneration of periodontal ligament. H&E ( × 100)



**Fig. 4.** Group II (7days): A photomicrograph showing active resorption in cellular cementum(Black asterisk). There are many inflammatory cells. H&E ( × 100)



**Fig. 5.** Group II (15days): A photomicrograph showing more active resorption in cellular cementum and dentin than 7days group(Black asterisk). H&E ( × 100)



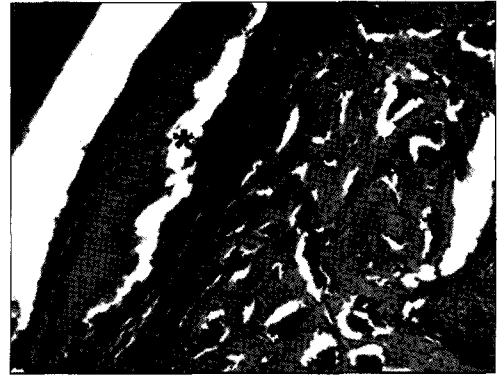
**Fig. 6.** Group II (15days): A photomicrograph showing fifth enlarged photomicrograph of Fig 5. Black asterisk indicates active root resorption. H&E ( × 200)

D: Dentin C: Cellular Cementum B: Bone P: Periodontal ligament

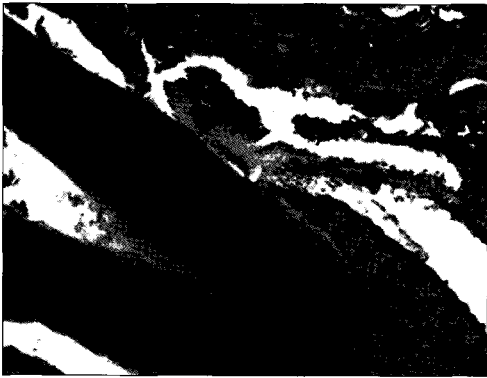
사진부도 ②



**Fig. 7.** Group II (30days): A photomicrograph showing intense inflammatory resorption communicating with root canal in apical third. White asterisk indicates severe inflammatory cell infiltration. H&E ( × 100)



**Fig. 8.** Group III (7days): A photomicrograph showing moderate root resorption in apical third area. Black asterisk indicates bowl-shaped resorption cavities. H&E ( × 100)



**Fig. 9.** Group III (15days): A photomicrograph showing locally replacement resorption area. Black asterisk indicates ankylosis by bone like matrix. H&E ( × 100)



**Fig. 10.** Group III (30days): A photomicrograph showing encapsulated replanted area by dense fibrous tissue and inflammatory cells. Black asterisk indicates inflammatory cells and fibers. H&E ( × 100)

D: Dentin C: Cellular Cementum B: Bone P: Periodontal ligament

Abstract

EFFECT OF TOPICAL ALENDRONATE APPLICATION  
ON INFLAMMATION OF REPLANTED RAT MOLAR

Sung Chul Choi, Keung-Ho Lee

*Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Kyung Hee University*

This study histologically assessed the effect of topical alendronate application on periodontal healing in replanted teeth in fifty four SD Rats. Upper first molars in rat were extracted and replanted after dried during 15 minutes or 60 minutes in the air. In Group I, all teeth were replanted after 15 minutes of dry storage without any other treatment. In Group II and III, the pulps were removed and all teeth were replanted after soaking 10 min in Hank's balanced salt solution with/without alendronate, followed by 60 minutes of dry storage. the rats were sacrificed after 7, 15 and 30 days. The histological parameters studied were healed PDL, surface inflammatory and replacement resorption, and inflammatory severity.

The following conclusions could be drawn from the present investigation.

1. Group I showed lower inflammatory root resorption and inflammation severity rate, compared to Group II and Group III. In Group I, there showed effective for reattachment and regeneration of PDL.
2. In Group II, inflammatory root resorption were more severe and faster than other groups. There were extensive root resorption in the rats sacrificed after 30 days.
3. In Group III, there were localized inflammatory resorption in several areas, but extensive resorption did not occur. Group III showed increase in root resorption rate, compared to Group I. However this difference was not statistically significant.
4. There were no difference between sacrificed days in replacement root resorption in all groups.

**Key words** : Tooth avulsion, Replantation, Alendronate, Periodontal healing