

백서에서 실험적 치아이동시 치조골 흡수에 미치는 Bisphosphonate의 영향 — 생화학적 및 조직학적 관찰 —

최진휴¹⁾, 김종철²⁾

백서에서 실험적 치아이동시 bisphosphonate가 파골세포의 형성에 미치는 영향과 골 흡수 억제기전을 규명하고 독성유무를 알아보고자 하였다. 체중 260-350g의 웅성 백서 87마리를 정상군(장치비장착 + 0.9% NaCl), 대조군(장치장착 + 0.9% NaCl) 및 장치장착후 bisphosphonate 투여군(0.8 mg, 4 mg, 20 mg, 및 100 mg/kg) 으로 분류하였다. 상악 좌측 제1대구치를 근심으로 치아이동이 일어나도록 50-70g의 교정력을 가하고, 교정장치 장착후 1일, 3일 및 7일째에 혈청 acid phosphatase와 lactate dehydrogenase (LDH)의 활성도를 측정하고, 또한 제1 대구치를 포함한 상악골 일부에서 파골세포수 및 골흡수 정도를 조직학적으로 관찰하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. Acid phosphatase 활성도는 장치후 1일째와 3일째에 대조군과 bisphosphonate 투여군에서 모두 정상군에 비해 2-3배 높았으나, 7일째에는 정상군과 유의한 차이를 보이지 않았다.
2. LDH활성도는 bisphosphonate 4 mg과 20 mg/kg 투여군에서 전 실험기간에 걸쳐 증가된 양상을 보였으나 0.8 mg과 100 mg/kg 투여군에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다.
3. 골흡수는 장치후 1일째에 대조군과 bisphosphonate 투여군에서 모두 관찰되지 않았으나, 3일 이후에 나타나 7일째까지 지속되었다. Bisphosphonate 4, 20 및 100 mg/kg군에서의 골흡수정도는 3일째에는 대조군에 비해 미약하였으나 7일째에는 대조군과 유사하게 나타났다.
4. 파골세포는 1일째에 대조군이나 bisphosphonate 투여군 모두에서 거의 관찰할 수 없었다. 3일째에 대조군에서는 파골세포가 다량 출현하였으나 bisphosphonate 투여군에서는 약물의 용량이 증가함에 따라 감소하여 나타났다.

이상의 결과로 실험적 치아이동시 파골세포의 형성억제가 bisphosphonate에 의한 골흡수 억제기전이 아님을 알 수 있었고, bisphosphonate는 투여량이 증가에 따른 뚜렷한 세포독성은 관찰되지 않았으며, 골흡수 억제효과를 지속시키기 위해서는 약물이 반복적으로 투여되어야 할 필요가 있음이 시사되었다.

(주요단어 : 치아이동, Bisphosphonate, Acid phosphatase, LDH, 파골세포)

I. 서 론

치아에 교정력을 가하면 치주인대와 치조골에서 골개조가 일어나는데, 압박측 치조골은 흡수되고 인

장측에서는 새로운 골이 형성된다^{31,33,44-46)}. 이러한 골 흡수와 골침가는 교정력이라는 기계적 자극에 의해 골을 흡수하는 파골세포와 골을 형성하는 조골세포가 분화됨으로써 이루어진다^{6,33,42)}. 교정력을 받은 치조골의 압박측에서 파골세포와 대식세포와 같은 골 흡수세포의 수가 증가하는데⁵⁾, 이러한 골 흡수 세포

¹⁾ 순천향대학교 의과대학 치과학교실 치과교정과, 전임강사

²⁾ 전남대학교 치과대학 교정학교실, 부교수

들은 높은 acid phosphatase 활성도를 보인다^{8,11,30,37}. 대구치를 고정원으로 하여 견치를 후방 이동시킬 때 한쪽은 치아가 이동해야 하는 이동측으로 작용하고 다른 한쪽은 치아가 움직이지 않아야 하는 고정측으로 작용하여야 한다. 임상에서 성공적인 교정치료를 위해 고정측 치아가 고정원으로써 작용할 수 있도록 Head gear, TPA, Nance holding arch, Lingual arch 등과 같은 장치를 사용하고 있다. 그러나 이러한 장치들은 환자에게 불편감을 주거나 환자의 협조도에 의존해야 한다. 이러한 고정원 보강의 한 방법으로서 약물이 도입된다면 보다 편하고 성공적인 교정치료를 할 수 있을 것이다. Igarashi 등²²⁾은 백서에서 bisphosphonate가 전신투여 및 국소투여에 의해 치아 이동을 억제시켰다고 하며 고정원 보강의 한 방법으로 bisphosphonate의 사용 가능성을 제시하였다.

Paget 씨 질환이나 골다공증과 같은 골흡수성 질환의 치료에 처음에는 pyrophosphate가 사용되어 오다가²³⁾, 1980년대 초 골흡수 억제 효과가 우수한 bisphosphonate가 개발되어 주로 정형외과 영역에서 사용되고 있다. Bisphosphonate는 골 조직의 수산화인회석 결정에 직접 부착하여 골흡수를 억제한다^{18,43)}. 치과 영역에서 bisphosphonate에 관한 연구로는 Hardt¹⁹⁾가 백서의 치아이동시 bisphosphonate가 치조골에 미치는 영향에 대해, Engstrom¹⁵⁾ 및 황과 손³⁾이 치아이동시 치근 흡수에 미치는 효과에 대해, Igarashi 등⁴³⁾이 백서 치아이동시 고정과 보정에 미치는 효과에 대해, Adachi 등⁴⁾이 bisphosphonate의 국소투여시 백서 치아이동에 미치는 영향에 대해, 그리고 조와 김²⁾이 bisphosphonate와 indomethacin이 백서 치조골의 골개조에 미치는 영향에 대해 보고한 바 있지만, bisphosphonate의 골흡수 억제기전과 독성은 아직 확실치 않는 듯하다.

저자는 백서에서 실험적 치아 이동시 bisphosphonate를 투여하여 파골세포의 형성에 미치는 영향과 골흡수 억제기전을 규명하고 독성유무를 알아보기 위해, 혈청 acid phosphatase 활성도와 lactate dehydrogenase(LDH)의 활성도를 살펴보고, 치조골의 조직학적 소견을 관찰하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료 및 장치장착

실험재료는 체중 260-350g의 Sprague-Dawley계

웅성 백서 87마리를 사용하여 정상군(장치비장착 + 0.9% NaCl), 대조군(장치장착 + 0.9% NaCl) 및 bisphosphonate 투여군(0.8, 4, 20, 100mg/kg)으로 분류하여 각 군당 4-6마리씩 배정하였다. 각 실험군의 상악 좌측을 실험측으로 하였다.

체중 kg당 15mg의 ketamine(케타라[®], 유한양행)을 복강내 주사하여 전신마취를 시행하였다. 교정장치로는 상악 중절치의 치경부에 홈(groove)을 형성하여 0.012 inch wire로 결찰하고 상악 좌측 제1대구치의 치경부에 동일한 두께의 wire로 환상강선고정(circumferential wiring)을 하여 그 사이에 교정용 elastic chain(Energy chain[®], RMO, USA)을 연결하였다. Tension gauge(Dentaurum, Germany)를 이용하여 50-70g의 교정력이 되도록 하고 실험기간동안 재조정하지 않았다.

Bisphosphonate 투여군은 장치장착과 동시에 체중에 따라 각 실험군에 해당되는 용량의 etidronate disodium(다이놀[®], 초당약품)을 복강 내로 투여하였고 대조군 및 정상군에서도 동일한 자극을 부여하기 위해 생리식염수를 복강 내로 투여하였다. 각 실험군은 교정장치 장착 1일, 3일, 및 7일째에 각각 희생시켰다.

2. 혈청 Acid phosphatase 및 Lactate dehydrogenase 검사

실험동물을 중등도의 ether 마취 하에 단두하여 곧바로 시험관에 혈액을 채취하였다. 혈액은 실온에서 응고시킨 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 acid phosphatase와 LDH 활성도를 측정하였다.

혈청 acid phosphatase 측정은 기질로 thymolphthalein monophosphate를 사용하고 acid phosphatase에 의해 가수분해되어 생성된 thymol을 spectrophotometer로 595nm에서 측정하는 end-point 측정법을 사용하였다. 혈청 LDH는 Wroblecki-LaDue 법을 사용하여 자동화학분석기(Hitachi 747, Hitachi, Tokyo, Japan)에서 측정하였다. 이 방법은 LDH에 의해 pH 7.4, 37° C에서 피루빈산이 젖산으로 환원되면서 NADH가 산화되어 소모되는 율을 spectrophotometer로 339 nm에서 측정하는 kinetic 측정법이다³⁵⁾.

각 실험군에서 평균과 표준오차를 구하고 통계학적 검정을 위해 각 군간의 차이는 Mann-Whitney 검정을 사용해 비교하였다.

Table 1. The serum acid phosphatase activities (K-AU/dl)

Group	Day 1	Day 3	Day 7
Control	37.13(1.60)	41.84(5.50)	23.24(2.65)
0.8 mg/kg	36.60(4.12)	34.03(1.84)	28.00(2.41)
4 mg/kg	48.78(2.77)*	37.47(2.11)	21.72(1.89)
20 mg/kg	50.40(2.34)*	46.05(4.41)	21.96(1.74)
100 mg/kg	49.30(2.29)*	54.70(8.84)	23.22(1.33)

Normal group : 18.42(0.99). Values are Mean(S.E.). N = 4-6.

*p < 0.01, compared with control.

Table 2. The serum lactate dehydrogenase activities (IU/L)

Group	Day 1	Day 3	Day 7
Control	1901.83(250.93)	3589.40(372.74)	2844.25(359.21)
0.8 mg/kg	2493.14(257.51)	2636.50(211.17)	2840.33(284.27)
4 mg/kg	5122.40(967.15)*	4106.67(251.52)	4443.17(532.62)*
20 mg/kg	4092.20(788.82)*	4670.60(964.02)	4078.43(302.47)*
100 mg/kg	2513.25(578.04)	3645.20(486.95)	2893.20(121.43)

Normal group : 1907.00(384.93). Values are Mean(S.E.). N = 4-6.

*P < 0.05, compared with control

3. 조직학적 관찰

광학현미경으로 조직학적 소견을 관찰하기 위해 ether 흡입 마취 하에 두부(head)를 채취한 후 실험측에서의 고정장치인 고정용 고무줄을 절단한 후 곧바로 고정액인 10% 중성 formalin 용액에서 3일간 고정시키고 5% 질산 용액을 2일에 한 번씩 교환하며 1-2 주 동안 탈회하였다. 탐침을 이용하여 탈회의 정도를 확인한 후 흐르는 물에 12시간 세척하고 제1대구치를 포함한 상악골 일부를 채취하여 파라핀에 포매하였으며 5 μ m 두께의 박편을 제작한 다음 hematoxylin-eosin 염색이나 Masson's trichrome 염색을 시행하여 광학 현미경으로 관찰하였다.

III. 실험성적

A. 생화학적 검사 소견

1. Acid phosphatase 활성화도

고정력을 가한 대조군의 acid phosphatase 활성화도

는 전 실험기간을 거쳐 고정장치를 장착하지 않은 정상군에 비해 증가된 양상을 보였다. 즉 1일째에 정상군에 비해 약 2배의 효소활성도를 보였고, 3일째에 정점을 이루다가 7일째에 정상군에 가까운 수준으로 감소된 양상을 보였다. Bisphosphonate 투여군의 효소활성도도 정상군에 비해 높게 나타났는데, 0.8 mg/kg 군의 활성화도는 전 실험기간을 거쳐 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았고, 4 mg군, 20 mg군 및 100 mg/kg군의 활성화도는 1일째에 정상군보다 약 2.7배의 높은 활성화도를 보였으나, 3일째와 7일째의 경우 대조군에서와 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 1).

2. LDH 활성화도

LDH 활성화도는 대조군에서 1일째에 정상군과 거의 비슷한 수준을 보이다가 3일째에 약 1.9배의 활성화도로 증가하여 정점을 보이고 7일째에 약간 감소하였다. Bisphosphonate를 투여한 경우, 4 mg군, 20 mg군 및 100mg/kg군에서 대조군에 비해 전기간에 걸쳐 높은 활성화도를 보였다 (Table 2).

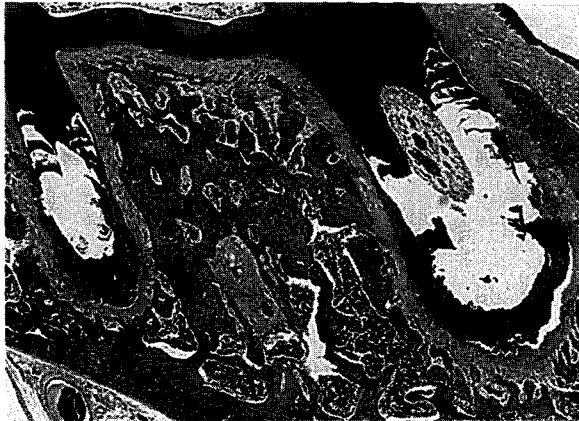


Fig. 1. Photomicrograph of maxillary first molar of nontreated group. Periodontal spaces have generally uniform thickness and bone marrow spaces are seen in the interradicular area. Masson's trichrome, X40.

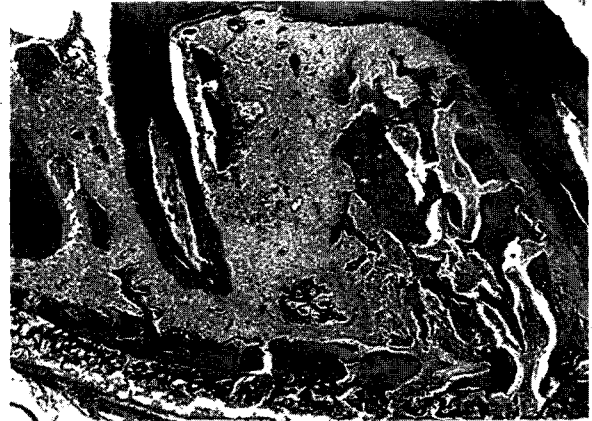


Fig. 2. Photomicrograph of control group at 7 days after the application of the force. Moderate numbers of osteoclasts and severe bone resorption are seen. Masson's trichrome, X40.

B. 조직학적 관찰 소견

1. 정상군과 대조군

교정력을 가하지 않은 정상군은 백악질과 치조골 사이의 치근막이 전반적으로 균일한 간격을 유지하면서, 치주인대의 사주섬유속이 일정한 배열로 주행하고 치주인대 내에 많은 섬유모세포가 교원섬유와 평행하게 배열되어 있었다(Fig. 1). 이에 반하여 교정력을 가한 대조군에서는 1일째에 압박측에 인접한 치주인대가 불규칙한 배열을 하고 초자양 변성을 관찰할 수 있으나 파골세포는 거의 관찰되지 않았다. 3일째에는 압박측에서 다량의 파골세포와 심한 골흡수가 나타났고 치근분지부의 치근간 골조직과 제 1,2대구치 사이의 치조골에서는 많은 염증세포와 혈액유�출, 확장된 혈관들이 관찰되었으며, 치근막은 파괴되거나 피사 소견을 보여 치주인대를 관찰할 수 없었다. 7일째에는 3일째에 비해 파골세포 수와 염증세포가 감소하는 경향을 보였다. 또한 근심 치근의 원심면(견인측)과 원심치근의 치근단부(압박측)에서는 치주인대의 재배열이 관찰되나 원심치근의 근심측에서는 여전히 염증세포와 피사조직이 관찰되었다. 치근분지부의 치근간 골조직과 제 1, 2 대구치 사이의 치조골에서는 파골세포와 염증세포 침윤이 심하고 혈액유�출과 확장된 혈관들이 관찰되었다. 매우 심한 치조골 흡수가 주로 원심 치근에 가까운 부위에서 나타났고 근심치근에 가까운 골조직에서는 골조직을 둘러싸는 조골세포가 관찰되었다(Fig. 2).

2. Bisphosphonate 0.8 mg/kg군

장치장착 및 bisphosphonate 0.8 mg/kg 투여군에서 1일째에 치근분지부에서는 약간의 염증세포와 혈액유험출이 관찰되었고 압박측인 원심 치근의 근심면에서는 치근막 간격이 좁아지면서 초자양 변성이 관찰되었으나 파골세포는 거의 관찰되지 않았다. 근심 치근의 원심면의 치근단부에서는 치근막 간격이 감소되면서 불규칙한 치주인대의 배열이 관찰되었다(Fig. 3). 3일째에 치근분지부의 치근간 골조직의 압박측에서 다량의 파골세포가 나타났고 제 1,2대구치 사이의 치조골에서도 많은 파골세포가 관찰되었다. 골흡수가 매우 높게 나타났는데 치근분지부 치조골 조직이나 제 1, 2 대구치 사이의 치조골 조직의 양이 현저히 감소되어 나타났다(Fig. 4). 7일째에 제 1 대구치의 치근 분지부에서 골흡수가 심하게 일어났고, 확장되고 충혈된 혈관증식은 여전히나 파골세포와 염증세포는 현저히 감소하는 경향을 보였다. 원심치근의 침단부와 근심치근의 원심면에서 완전하지는 않으나 치주인대의 재배열을 관찰할 수 있었다.

3. Bisphosphonate 4 mg/kg군

장치장착 및 bisphosphonate 4 mg/kg 투여군에서 1일째에 치근분지부에서 압박측인 원심 치근의 근심 쪽으로 약간의 염증세포가 관찰되었고 원심 치근의 근심면은 치근막 간격이 감소하고 치주인대의 방향이 상실되어 있었다. 제 1 대구치의 치근분지부의 치조골에서 파골세포는 거의 관찰되지 않았다. 3일째에

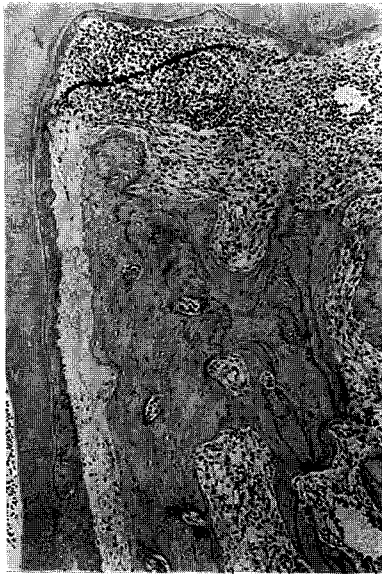


Fig. 3. Photomicrograph of bisphosphonate(0.8 mg /kg) treated group at 1 day after the application of the force and the administration of bisphosphonate. Few osteoclasts are seen. H & E stain, X100.



Fig. 4. Photomicrograph of bisphosphonate(0.8 mg /kg) treated group at 3 days after the application of the force and the administration of bisphosphonate. Numerous osteoclasts and severe bone resorption are seen. Masson's trichrome, X100.

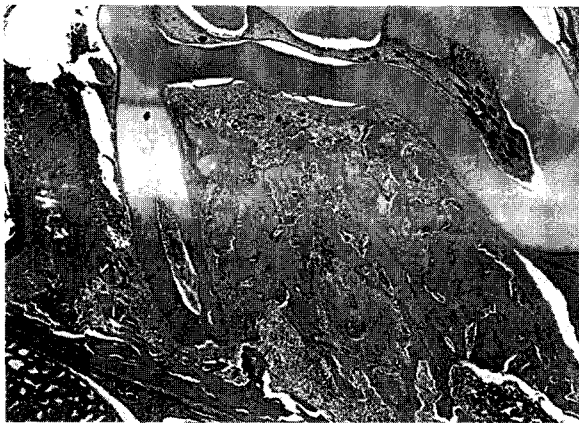


Fig. 5. Photomicrograph of bisphosphonate(4 mg /kg) treated group at 3 days after the application of the force and the administration of bisphosphonate. Inhibition of bone resorption with moderate to severe numbers of osteoclasts are seen. H & E stain, X40.

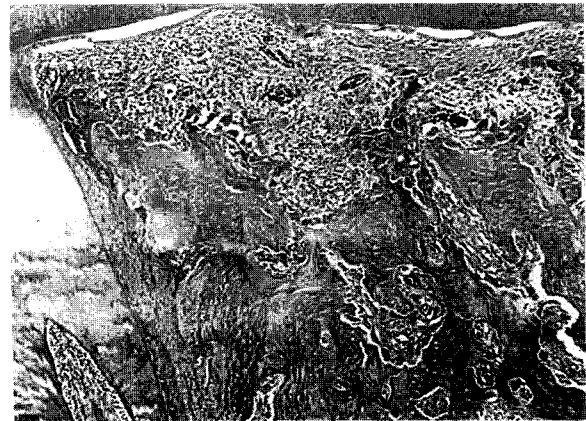


Fig. 6. Photomicrograph of bisphosphonate(4 mg /kg) treated group at 3 days after the application of the force and the administration of bisphosphonate. Moderate to severe numbers of osteoclasts are observed. Masson's trichrome, X100.

치근분지부와 제 1, 2 대구치 사이의 치조골에서 많은 파골세포가 관찰되었다. 그러나 골흡수량은 세포수에 비해 많지 않았다. 파골세포가 증가된 부위에는 많은

염증세포와 확장되고 충혈된 혈관을 쉽게 관찰할 수 있었다. 또한 원심치근의 근심면에서는 초자양 변성을 관찰할 수 있었고 원심치근의 치근단부와 근심치

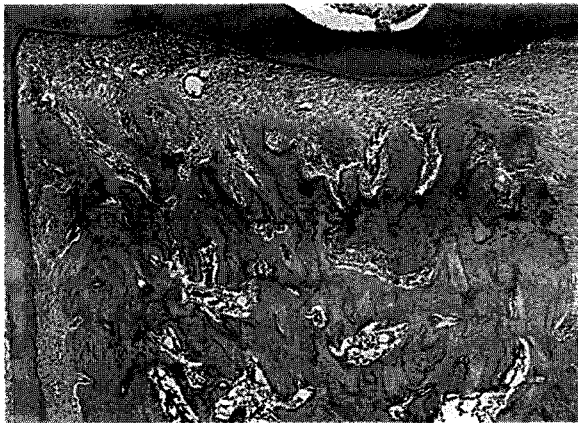


Fig. 7. Photomicrograph of bisphosphonate(20 mg/kg) treated group at 1 day after the application of the force and the administration of bisphosphonate. Few osteoclasts are seen. H & E stain, X100.



Fig. 8. Photomicrograph of bisphosphonate(20 mg/kg) treated group at 3 days after the application of the force and the administration of bisphosphonate. Inhibition of bone resorption with moderate numbers of osteoclasts are seen. Masson's trichrome, X100.



Fig. 9. Photomicrograph of bisphosphonate(100 mg/kg) treated group at 3 days after the application of the force and the administration of bisphosphonate. Inhibition of bone resorption with a few osteoclasts are seen. Masson's trichrome, X100.



Fig. 10. Photomicrograph of bisphosphonate(100mg/kg) treated group at 7 days after the application of the force and the administration of bisphosphonate. A few osteoclasts and severely resorbed bone are observed. Masson's trichrome, X100.

근의 원심부에선 치주인대의 재배열도 관찰할 수 있었다(Fig. 5, 6).

4. Bisphosphonate 20 mg/kg군

장치장착 및 bisphosphonate 20 mg/kg 투여군에서 1일째에 파골세포는 거의 관찰할 수 없었다. 치근분

지부에서 약간의 염증세포가 관찰되었는데, 원심치근의 근심면에서 초자양 변성이 보였고 반대편의 견인측은 치주인대의 간격이 넓어져 있었다(Fig.7). 3일째에 여전히 다량의 파골세포가 관찰되었으나 4 mg/kg 군에 비해 약간 감소되며 파골세포수의 증가에 비례한 골흡수는 나타나지 않았다. 파골세포 주위에는 많

은 염증세포와 확장된 혈관이 잘 관찰되었다(Fig. 8). 7일째에 파골세포는 감소하였으나 상당한 골흡수가 대조군 7일째와 유사한 정도까지 증가되고, 골조직이 흡수된 부위는 섬유조직, 괴사조직과 염증세포, 확장된 혈관 등이 차지하고 있었다. 골흡수는 원심치근에 가까운 치근분지부 치조골과 제 1, 2 대구치 사이의 치조골에서 현저하였고 근심치근과 인접한 치조골에서도 약간의 흡수가 관찰되며 일부에서는 조골세포도 관찰되었다. 치주인대는 원심치근의 치근단부와 근심치근의 원심면에서 재배열되어 관찰되었다.

5. Bisphosphonate 100 mg/kg군

장치장착 및 bisphosphonate 100 mg/kg 투여군에서 1일째에 다른 군과 유사하게 파골세포나 골흡수는 관찰되지 않았다. bisphosphonate 20 mg/kg군과 비교할 때 3일째에 파골세포가 감소되어 나타났으며, 7일째에는 대조군과 유사한 골흡수 소견을 보였다(Figs. 9, 10).

IV. 총괄 및 고찰

치아이동을 일으키기 위한 생물학적 반응을 유도하는 자극원으로서 교정력이 사용되는데, 이 때 치아이동은 3단계로 일어난다. 첫 번째 단계는 치근막이 압박되면서 약간의 치아가 이동하는 초기 이동기이고, 두 번째 단계는 초자양 변성이 생김으로써 어떤 기간 동안 치아이동이 일어나지 않는 이동 지연기이며, 세 번째 단계는 초자양 변성이 해소된 후에 활발한 골개조가 일어남으로써 치아가 빠르게 이동하는 말기 이동기이다²⁵⁾. King 등²⁶⁾은 백서에서 교정적으로 치아를 이동시킬 때 bone turnover cycle을 관찰하고 첫 3-5일 동안 지속되는 초기 골흡수기, 뒤이어 골흡수에서 골형성으로 반전되는 5-7일 동안의 전환기, 그리고 7-14일 동안에 걸친 골형성기로 분류하였다. 그리고 Keeling 등²⁴⁾은 치아이동이 혈청 및 골조직 acid phosphatase에 미치는 효과를 조사하고 7일까지는 유의한 변화를 관찰하였지만 그 이후에는 유의한 변화를 볼 수 없다고 하였다. 이에 본 연구에서 실험기간을 7일까지로 설정하고 골흡수의 조직학적 소견이 가장 활발하게 나타나는 3일을 중심으로 1일과 7일을 관찰하였다. Reitan³⁹⁾은 교정력 크기(25g 또는 125g)에 관계없이 치근막은 점진적으로 압박을 받으나 단지 약한 힘이 가해지면 무세포대(초자양 변성대)가 덜 심하게 나타난다고 하였고, King 등²⁷⁾은 백서에서 40gm과

60gm의 교정력을 가했을 때에 20gm의 교정력을 가했을 때보다도 치아이동량이 더 많다고 하였다. 백서에서 초자양 변성은 교정력을 가한 초기(약 6-24시간)에 일어나는데^{33,40,44,47)}, 본 연구에서 적용한 50-70gm의 힘은 초자양 변성을 일으킬 수 있는 힘으로 작용하였으며 대조군뿐 아니라 모든 bisphosphonate 투여군에서 1일째에 초자양 변성이 관찰되었다.

본 연구에서 교정력을 가하지 않은 정상 조직에서 골수강에 파골세포가 나타나지 않았고 대조군을 포함한 모든 실험군에서도 1일째에 파골세포를 관찰할 수 없었는데, 이는 교정력을 가하지 않은 정상적인 골수강에 파골세포가 나타나지 않았고 교정력을 가한 24시간 이후에야 파골세포가 골수강내에서 나타났으며 3일 후에는 그 수가 증가하였다고 한 Deguchi와 Mori¹²⁾의 소견과 일치하였다.

치아가 이동하기 위해서는 교정력에 의해 생긴 압박측의 초자양 변성대 및 치주조직들이 파골세포(치조골 흡수에 관여), 흡수성 대식세포(초자양 변성대의 흡수 및 치근막의 개조에 관여)^{37,48,49)} 및 섬유모세포(치근막의 개조에 관여)⁵³⁾에 의해 분해되고 흡수됨으로써 이루어진다. 이러한 모든 흡수성 세포들은 높은 acid hydrolase 활성을 갖는다^{8,11,13)}. 특히 acid phosphatase는 파골세포 및 대식세포와 같은 골흡수 세포들에서 높은 활성도를 갖는 파립성 가수분해효소이다^{8,11,37)}. Takimoto 등^{51,52)}은 백서에서 치아이동시 치주조직에서 3일째에 높은 acid phosphatase 활성도를 보이는 파골세포가 압박측 치조골 표면에 많이 출현하고, 5일째에는 이 부위의 파골세포가 강한 acid phosphatase 활성도를 보이면서 파골세포수도 현저하게 증가했다고 하였다. Lija 등³⁰⁾은 압박측에서 acid phosphatase 활성도가 증가하며, 특히 골수에서의 acid phosphatase 활성도 증가가 치아이동 시작 초기에 나타난다고 하였으며, Acid phosphatase-함유세포들은 치조골에서 비특이성으로 분포하다가 나중에는 압박대에 국소적으로 모여 나타났다고 하면서 골수에서 파골세포 형성이 증가하여 파골세포가 압박대쪽으로 이동하고 있음을 보여주었다. 김과 남¹⁾은 고양이에서 치아이동시 시간경과에 따른 치조골에서의 효소 활성도를 보고 압박측에서 치조골 acid phosphatase가 1일째에 최고치를 보인다고 하였다. Keeling 등²⁴⁾은 교정적 치아이동시 혈청 acid phosphatase는 1일째에, 치조골 acid phosphatase는 3일째에 최고치를 보이고 치조골 흡수가 3일째에 가장 활발하다고 하였다. 본 연구에서도 교정력만 가한

대조군의 경우 정상군에 비해 acid phosphatase 활성도가 1일째에 약 2배로 증가하여 3일째까지 증가된 양상을 보였고, 조직학적 소견에서도 3일째에 다량의 파골세포가 관찰되었다. 혈청 acid phosphatase 증가가 조직학적 소견에서 다량의 파골세포 출현보다 앞서 나타난 것으로 보아 교정력을 가한 초기단계에 골흡수세포가 먼저 활발하게 기능을 하며 교정력을 받은 치주조직으로 이동하여 치조골을 흡수하는 것으로 생각된다.

LDH는 혐기성 당분해에 참가하여 세포의 에너지 대사에 수반되는 효소로서²⁸⁾, 그 활성도는 세포의 생활력 측정에 사용된다. Deguchi와 Mori¹²⁾는 교정적 치아이동시 골형성이 일어나는 치근막, 조골세포 및 파골세포에서 강한 LDH 활성도를 보인다고 하였는데, 이는 조골세포가 당분해와 ATP 생성을 수행하고 파골세포에서도 mitochondria 수가 증가되어 탄수화물 대사가 활발하게 일어나고 있음을 보여 주는 것이라고 하였다. 본 연구에서 LDH는 교정력을 가한 대조군의 경우 1일군에서 정상군과 유사하게 나타났으나 3일군과 7일군에서 높은 활성도를 나타내었다.

골 대사질환 치료제로 일찍부터 hydroxyapatite에 강한 친화력을 갖는 pyrophosphate가 사용되었으나, 이 물질은 P-O-P bond를 지니고 있어서 생체 투여시 빠르게 가수분해되므로 오랫동안 작용하지 않는다. Bisphosphonate는 화학적 및 효소에 의한 가수분해에 안정적인 P-C-P bond를 지니서 화학적 분해에 저항성이 강하다. 흡수된 양의 약 1/2은 골조직으로 가고 나머지는 대부분 소변으로 배설되며 소량만이 연조직에 머물게 될 뿐 아니라 골조직에 대한 강한 친화력 때문에 미리 골조직에 부착하여 파골세포의 부착을 억제함으로써 골흡수를 억제하게 된다^{18,23)}. 백서에서 bisphosphonate의 골조직 보유(bone retention)에 대한 반감기는 약 2-4주이다¹⁸⁾. 본 연구에서 bisphosphonate는 교정력에 의한 치아이동시 필수적으로 수반되는 치조골 흡수를 억제시켰다. 대조군에서 치아이동시 교정력을 가한지 3일경에 치조골 흡수가 가장 활발하게 나타났으나 bisphosphonate를 투여한 경우는 3일째 치조골흡수가 용량 증가에 비례하여 억제되어 나타났다. 동물실험이나 임상에서 bisphosphonate의 주요 부작용은 아직 보고되지 않았는데, 본 연구에서도 대량(100 mg/kg)을 투여한 군에서 특이할만한 부작용이나 뚜렷한 독성은 관찰되지 않았다.

파골세포의 형성에 미치는 bisphosphonate의 효과는 in vitro 소견과 in vivo 소견이 서로 다르게 나타

나는 것 같다. Hughes 등²¹⁾은 인체 골수의 장기 배양에서 bisphosphonate가 골흡수세포 형성을 억제함으로써 골흡수를 억제한다고 하였고, Boonekamp 등⁷⁾은 hematopoietic origin의 mononuclear cell이라 생각되는 파골전구세포의 모집(recruitment)이나 분화를 억제함으로써 골흡수를 억제한다고 하였다. 그러나 in vivo에서는 bisphosphonate를 투여하면 오히려 파골세포 형성과 모집이 촉진되는데도 골흡수는 억제되었다고 하였다^{14,19,34,36)}. Endo 등¹⁴⁾에 의하면 생후 6주된 웅성 생쥐에 bisphosphonate를 복강 내로 1회 투여시 대식세포, granulocytes 및 파골세포의 수가 증가하였다. 또한 Marshall 등³⁴⁾은 생후 2일된 생쥐에 bisphosphonate를 복강내 투여후 파골전구세포를 찾아보기 위해 희생 24시간 전에 동위원소를 투여하였는데, bisphosphonate 투여후 3일째에 측두골에서 파골세포의 핵수(nuclei number)가 3배 증가하여 bisphosphonate가 파골세포의 발육을 억제하지 않으며, 이 때 파골전구세포의 모집(recruitment)을 증가시켰다고 추론하였다. 본 연구에서 bisphosphonate 투여군의 경우 1일째에 acid phosphatase와 LDH가 대조군에 비해 높게 나타났다. 이때 bisphosphonate 4 mg, 20 mg 및 100 mg/kg 투여군에서는 대조군에 비해 acid phosphatase의 활성도가 더욱 높게 나타났는데 이는 용량 증가시 조직학적 소견상 파골세포가 더 적게 출현하는 것과 차이가 난다. 즉 bisphosphonate는 골흡수를 억제함에도 불구하고 대량 투여시 초기에 파골세포의 형성을 자극하거나 기존의 파골세포 활성을 증대시켰음을 암시한다. 그러나 이 때 생긴 파골세포가 성숙세포인지 비성숙세포인지 구별되지 않는지만 파골전구세포일 가능성이 높다. 그 이유는 파골세포는 골조직과 부착해야만 성숙한 파골세포가 될 수 있기 때문이다³²⁾.

Lowik 등³²⁾과 Mühlbauer³⁶⁾는 bisphosphonate가 파골세포의 이동과 모집에 영향을 주지 않는다고 하였고, Chambers 등¹⁰⁾, Reitsma 등⁴¹⁾과 Sato 등⁵⁰⁾에 의하면 파골세포가 골조직으로의 부착을 억제하지 않는다고 하였다. 그리고 Lerner 등²⁹⁾은 bisphosphonate가 LDH에 영향을 주지 않고 파골세포의 Ca²⁺ 유리효과를 억제시키며, 골을 흡수할 수 있는 농도에서 단백질 합성과 mitotic activities에 영향이 없다고 하였고, Flanagan 등¹⁶⁾도 bisphosphonate 자체만으로는 파골세포의 수와 형태에 영향주지 않았다고 하여 약물 자체가 독성이 없음을 보여주었다. 그러나 골조직과 결합한 bisphosphonate는 독성을 지니게 된다.

Flanagan 등¹⁷⁾은 bisphosphonate가 결합되어 있는 골조직을 파골세포가 용해시 파골세포에 손상을 가한다고 하였고, Chambers 등¹⁰⁾, Reitsma 등²⁰⁾ 및 Flanagan 등¹⁶⁾도 골조직과 결합한 bisphosphonate가 골을 흡수하려는 파골세포에 세포독성을 가진다고 하였다. 그러나 골조직과 결합한 bisphosphonate가 어떻게 파골세포에 독성을 보이는지 아직 확실하지 않지만 세포의 대사장애를 유발시키는 듯하다^{2,9,38,50)}. 본 연구에서도 bisphosphonate 투여후 3일째 조직소견에서 골수강에 다량의 파골세포가 나타났는데도 불구하고 골흡수는 억제되고 있는데, 이는 활발하게 형성된 파골세포가 목적지로 모여 골조직을 흡수하려고 할 때 골조직과 결합하고 있는 bisphosphonate가 파골세포에 독성을 보임으로써 골흡수를 억제하는 것이라 생각된다. Igarashi 등²²⁾, Adachi 등⁴⁾ 및 조와 김²⁾의 광학현미경 소견에서 교정적인 치아이동시 bisphosphonate를 투여한 경우에 투여하지 않은 경우보다 파골세포수가 적게 나타났고 본 연구에서도 bisphosphonate를 투여한 경우에 용량을 증가함에 따라 파골세포의 수가 감소되어 나타났는데, 이는 파골세포가 골을 흡수하려다가 골조직에 부착된 bisphosphonate의 독성에 의해 분리되는 것으로 생각된다.

본 연구에서 bisphosphonate 투여 3일째에 파골세포가 상당히 관찰되었지만 도리어 골흡수는 억제되다가 7일째에 골흡수가 대조군 7일째의 경우와 유사한 정도의 심한 골흡수가 관찰되었는데, 이는 장치장착과 동시에 1번 투여한 bisphosphonate가 골조직에 부착되어 있다가 7일째에는 골조직으로부터 빠져나감으로써 활발하게 형성된 파골세포가 대기하고 있다가 골을 흡수하는 것으로 생각된다. Bisphosphonate는 용량을 증가시켜 투여하면 골조직에의 축적량은 증가하지만 반감기를 증가시키지는 못하는 것으로 알려지고 있다²⁰⁾. 따라서 bisphosphonate에 의한 골흡수 억제효과를 지속시키기 위해서는 약물의 반복 투여가 필요하리라 생각된다.

임상적으로 교정적인 치아이동시 고정원으로 작용하려면 약물의 국소 투여가 필요하다. Igarashi 등²²⁾과 Adachi 등⁴⁾이 bisphosphonate의 국소투여가 고정원으로 작용하는 치아이동을 억제시켰다고 보고하였지만, 여기에도 반복투여라는 문제가 남아 있다. 환자를 자주 내원시키지 않고도 약물 효과가 지속적으로 유지되게 할 수 있는 방법으로 치근상 삼입제와 같은 연구가 필요하리라 생각된다.

결론적으로 bisphosphonate는 치아이동시 골흡수를 억제시켰다. 그러나 파골세포의 형성 억제가 골흡수 억제기전이 아님을 알 수 있었고 골조직에 부착된 bisphosphonate가 파골세포의 탐식시 독성을 나타내 골흡수를 억제하는 것으로 생각된다. 그리고 bisphosphonate는 투여량과 관계없이 일정한 반감기를 가지므로 일회 대량투여보다는 반복투여가 더 유효하리라 사료된다.

V. 결 론

백서에서 실험적 치아 이동시 bisphosphonate가 파골세포의 형성에 미치는 영향과 골 흡수 억제기전을 규명하고 독성유무를 알아보려고 하였다. 체중 260-350g의 웅성 백서 87마리를 정상군(장치비장착 + 0.9% NaCl), 대조군(장치장착 + 0.9% NaCl) 및 장치장착후 bisphosphonate 투여군(0.8 mg, 4 mg, 20 mg, 및 100 mg/kg) 으로 분류하였다. 상악 좌측 제1대구치를 근심으로 치아이동이 일어나도록 50-70g의 교정력을 가하고, 교정장치 장착후 1일, 3일 및 7일째에 혈청 acid phosphatase와 lactate dehydrogenase (LDH)의 활성도를 측정하고, 또한 제1대구치를 포함한 상악골 일부에서 파골세포수 및 골흡수 정도를 조직학적으로 관찰하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. Acid phosphatase 활성도는 장치후 1일째와 3일째에 대조군과 bisphosphonate 투여군에서 모두 정상군에 비해 2-3배 높았으나, 7일째에는 정상군과 유의한 차이를 보이지 않았다.
2. LDH 활성도는 bisphosphonate 4 mg과 20 mg/kg 투여군에서 전 실험기간에 걸쳐 증가된 양상을 보였으나 0.8 mg과 100 mg/kg 투여군에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다.
3. 골흡수는 장치후 1일째에 대조군과 bisphosphonate 투여군에서 모두 관찰되지 않았으나, 3일 이후에 나타나 7일째까지 지속되었다. Bisphosphonate 4, 20 및 100 mg/kg군에서의 골흡수정도는 3일째에는 대조군에 비해 미약하였으나 7일째에는 대조군과 유사하게 나타났다.
4. 파골세포는 1일째에 대조군이나 bisphosphonate 투여군 모두에서 거의 관찰할 수 없었다. 3일째에 대조군에서는 파골세포가 다량 출현하였으나 bisphosphonate 투여군에서는 약물의 용량이 증가함에 따라 감소하여 나타났다.

이상의 결과로 실험적 치아이동시 파골세포의 형성억제가 bisphosphonate에 의한 골흡수 억제기전이 아님을 알 수 있었고, bisphosphonate는 투여량이 증가함에 따라 뚜렷한 세포독성은 관찰되지 않았으며, 골흡수 억제효과를 지속시키기 위해서는 약물이 반복적으로 투여되어야 할 필요가 있음이 시사되었다.

참고 문헌

1. 김형수, 남동석: 교정력이 치조골의 효소활성에 미치는 영향. *대치교정지* 22:297-308, 1992.
2. 조명숙, 김종철: Bisphosphonate와 Indomethacin이 백서 치조골의 골개조에 미치는 영향. *대치교정지* 26:163-174, 1996.
3. 황충주, 손병화: Bisphosphonate (bisphosphonate disodium) 투여후 치아 이동에 따른 치근흡수 및 치조골의 변화에 관한 연구. *대치교정지* 21:77-96, 1991.
4. Adachi H, Igarashi K, Mitani H, Shinoda H: Effects of Topical administration of a bisphosphonate (Risendronate) on orthodontic tooth movements in rats. *J Dent Res* 73:1478-1484, 1994.
5. Azuma M: Study on histologic changes of periodontal membrane incident to experimental tooth movement. *Bull Tokyo Med Dent Univ* 17:149-178, 1970.
6. Baumrind S, Buck DL: Rate changes in cell replication and protein synthesis in the periodontal ligament incident to tooth movement. *Am J Orthod* 57:109-131, 1970.
7. Boonekamp PM, Van der Wee-Pals LJA, Van Wijk-Van-Lennep MML, Thesing CW, Bijvoet OLM: Two modes of action of bisphosphonates on osteoclastic resorption of mineralized matrix. *Bone Miner* 1:27-39, 1986.
8. Burstone MS: Histochemical demonstration of acid phosphatase activity in osteoclasts. *J Histochem Cytochem* 7:39-41, 1959.
9. Carano A, Teitelbaum SL, Konsek JD, Schlesinger PH, Blair HC: Bisphosphonates directly inhibit the bone resorption activity of isolated avian osteoclasts in vitro. *J Clin Invest* 85:456-461, 1990.
10. Chambers TJ: Diphosphonates inhibit bone resorption by macrophages in vitro. *J Pathol* 132:255-262, 1980.
11. Cohn ZA, Wiener E: The particulate hydrolases of macrophages. I. Comparative enzymology, isolation and properties. *J Exp Med* 118:991-1008, 1963.
12. Deguchi T, Mori M: Histochemical observations on oxidative enzymes in periodontal tissues during experimental tooth movement in the rat. *Archs Oral Biol* 13:49-59, 1968.
13. Deporter DA, Ten Cate AR: Fine structural localization of acid and alkaline phosphatase in collagen containing vesicles of fibroblasts. *J Anat* 114:457-461, 1973.
14. Endo Y, Nakamura M, Kikuchi T, Shinoda H, Takeda Y, Nitta Y, Kumagai K: Aminoalkylbisphosphonates, potent inhibitors of bone resorption, induce a prolonged stimulation of histamine synthesis and increase macrophages, granulocytes, and osteoclasts in vivo. *Calcif Tissue Int* 52:248-254, 1993.
15. Engstrom C: Root resorptions during orthodontic tooth movement and bone remodeling dynamics during hypocalcemia and treatment with bisphosphonate. In: Davidocitch (Ed): *The Biological Mechanism of Tooth Eruption and Resorption, An International Conference*. pp. 391-397, 1988.
16. Flanagan AM, Chambers TJ: Dichloromethylene bisphosphonate (Cl2Mbisphosphonate) inhibits bone resorption through injury to osteoclasts that resorb Cl2Mbisphosphonate-coated bone. *Bone Mineral* 8:33-43, 1989.
17. Flanagan AM, Chambers TJ: Inhibition of bone resorption by bisphosphonates: interactions between bisphosphonates, osteoclasts, and bone. *Calcif Tissue Int* 49:407-415, 1991.
18. Fleisch J, Russell RGG, Francis MD: Disphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science* 165:1262-1264, 1969.
19. Hardt AB: Bisphosphonate effects on alveolar bone during rat molar drifting. *J Dent Res* 67:1430-1433, 1988.
20. Hoggarth CR, Bennett R, Daley-Yates PT: The pharmacokinetics and distribution of pamidronate for a range of doses in the mouse. *Calcif Tissue Intern* 49:416-420, 1991.
21. Hughes DE, MacDonald BR, Russell RGG, Gowen M: Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. *J Clin Invest* 83:1930-1935, 1989.
22. Igarashi K, Mitani H, Adachi H, Shinoda H: Anchorage and retentive effects of a bisphosphonate on tooth movements in rats. *Am J Orthod* 106:279-289, 1994.
23. Jung AA, Biatz S, Fleisch HA: The binding of pyrophosphate and two diphosphonates by hydroxyapatite crystal. *Calcif Tiss Res* 11:269-280, 1973.
24. Keeling SD, King GJ, McCoy EA, Valdez M: Serum and alveolar bone phosphatase changes reflect bone turnover during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod* 103:320-326, 1993.

25. King GJ, Fischlschweiger W: The effect of force magnitude on extractable bone resorptive activity and cemental cratering in orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 61:775-779, 1982.
26. King GJ, Keeling SD, Wronski TJ: Histomorphometric study of alveolar bone turnover during orthodontic tooth movement. *Bone* 12:401-409, 1991.
27. King GJ, Keeling SD, McCoy EA, Ward TH: Measuring dental drift and orthodontic tooth movement in response to various initial forces in adult rats. *Am J Orthod* 99:456-465, 1991.
28. Lehninger AL: Principles of biochemistry. Worth Publishers, New York, 1982.
29. Lerner UH, Larsson A: Effects of four bisphosphonates on bone resorption, lysosomal enzyme release, protein synthesis and mitotic activities in mouse calvarial bones in vitro. *Bone* 8:179-189, 1987.
30. Lilja E, Lindskog S, Hammarström L: Histochemistry of enzymes associated with tissue degradation incident to orthodontic tooth movement. *Am J Orthod* 83:62-75, 1983.
31. Lopez OR, Parodi RJ, Ubios AM, Carranza FA Jr., Cabrini RL: Histologic and histometric study of bone resorption after tooth movement in rats. *J Periodont Res* 8:327-333, 1973.
32. Lowik CWGM, Van der Pluijm G, Van der Wee-Pals LJA, Bloys van Treslong-de Groot H, Bijvoet OLM: Migration and phenotypic transformation of osteoclast precursors into mature osteoclasts: the effect of a bisphosphonate. *J Bone Miner Res* 3:185-191, 1988.
33. Macapanpan LC, Wemmann JP, Brodie AG: Early tissue changes following tooth movement in rats. *Angle Orthod* 24:79-95, 1954.
34. Marshall MJ, Holt I, Davie MWJ: Osteoclast recruitment in mice is stimulated by (3-amino-1-hydroxypropylidene)-1,1-bisphosphonate. *Calcif Tissue Int* 52:21-25, 1993.
35. Moss DW, Henderson AR: Enzymes. In: Burtis CA, Ashwood ER: Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Saunders, pp 735-896, 1994.
36. Mühlbauer RC, Bauss F, Schenk R, Janner M, Bosies E, Strein K, Fleisch H: BM 21.0955, a potent new bisphosphonate to inhibit bone resorption. *J Bone Miner Res* 6:1003-1011, 1991.
37. Parakkal PF: Involvement of macrophages in collagen resorption. *J Cell Biol* 41:345-354, 1969.
38. Piper K, Boyde A, Jones SJ: The effect of 3-amino-1-hydroxy-propylidene-1, 1-bisphosphonate on the resorptive function of osteoclasts of known nuclear number. *Calcif Tissue Int* 54:56-61, 1994.
39. Reitan K: Tissue behavior during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod* 46:881-900, 1960.
40. Reitan K, Kvam E: Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement. *Angle Orthod* 41:1-14, 1971.
41. Reitsma PH, Teitelbaum SL, Bijvoet OLM, Kahn AJ: Differential action of bisphosphonates and disodium dichloromethylene bisphosphonate on rat macrophage-mediated bone resorption in vitro. *J Clin Invest* 70:927-933, 1982.
42. Roberts WE, Chase DC: Kinetics of cell proliferation and migration associated with orthodontically-induced osteogenesis. *J Dent Res* 60:174-181, 1981.
43. Russel RG, Fleish H: Pyrophosphate and diphosphonates in skeletal metabolism. *Clin Orthop Relat Res* 108:241-263, 1975.
44. Rygh P: Ultrastructural cellular reactions in pressure zones of rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement. *Acta Odontol Scand* 30:575-593, 1972.
45. Rygh P: Ultrastructural vascular changes in pressure zones of rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement. *Scand J Dent Res* 80:307-321, 1972.
46. Rygh P: Ultrastructural changes in pressure zones of human periodontium incident to orthodontic tooth movement. *Acta Odontol Scand* 31:109-122, 1973.
47. Rygh P: Ultrastructural changes of the periodontal fibers and their attachment in rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement. *Scand J Dent Res* 81:467-480, 1973.
48. Rygh P: Elimination of hyalinized periodontal tissues associated with orthodontic tooth movement. *Scand J Dent Res* 82:57-73, 1974.
49. Rygh P, Bowling K, Hovlandsdal L, Williams S: Activation of the vascular system: A main mediator of periodontal fiber remodeling in orthodontic tooth movement. *Am J Orthod* 89:453-468, 1986.
50. Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H: Bisphosphonate action Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest* 88:2095-2105, 1991.
51. Takimoto K, Deguchi T, Mori M: Histochemical detection of succinic dehydrogenase in osteoclasts following experimental tooth movement. *J Dent Res* 45:1473-1476, 1966.
52. Takimoto K, Deguchi T, Mori M: Histochemical detection of acid and alkaline phosphatases in periodontal tissues after experimental tooth movement. *J Dent Res* 47: 340, 1968.

53. Ten Cate AR, Deporter DA, Freeman E: The role of fibroblasts in the remodeling of periodontal ligament during physiologic tooth movement. *Am J Orthod* 69:155-168, 1976.

-ABSTRACT-

Effects of Bisphosphonate on Alveolar Bone Resorption during Experimental Tooth Movement in Rats

— Biochemical & Histological Observations —

Jin-Hugh Choi, Jong-Chul Kim

Department of Orthodontics, College of Medicine, Soonchunhyang University, Chonan, Korea¹⁾
Department of Orthodontics, College of Dentistry, Chonnam National University, Kwangju, Korea²⁾

This study was performed to examine the effect of bisphosphonate, an inhibitor of bone resorption, on the formation of osteoclast and bone resorption during experimental tooth movement. Whether bisphosphonate has a cytotoxicity in high dose was also examined. Eighty-seven male Sprague-Dawley rats, weighing 260-350g, were classified into normal (no appliance + 0.9% NaCl), control (appliance + 0.9% NaCl) and four bisphosphonate-treated (appliance + 0.8, 4, 20 or 100 mg/kg) groups. The maxillary left first molar was moved mesially with the tipping movement using 50-70g of force. Bisphosphonate(etidronate disodium) was injected intraperitoneally with a dose of 0.8, 4, 20, or 100 mg/kg simultaneously with the application of the orthodontic force. They were killed at day 1, 3, or 7 after the application of the orthodontic force. The activities of serum acid phosphatase and lactate dehydrogenase (LDH) were assayed, and osteoclasts and the degree of bone resorption were examined histologically.

The results obtained were as follows:

1. Acid phosphatase activities were significantly higher in the appliance groups, both control and bisphosphonate-treated (4, 20, and 100 mg/kg) groups, at days 1 and 3 than these in normal. At day 1, bisphosphonate-treated(4, 20mg/kg) groups showed even higher acid phosphatase than control. However, at day 7, no significant difference was noted between the control and bisphosphonate-treated groups.
2. LDH activities in the 4, 20mg/kg bisphosphonate-treated groups were increased during the experimental periods examined, but there were no significant differences in the 0.8, 100mg/kg bisphosphonate-treated groups.
3. There was no bone resorption at day 1, but severe bone resorption was observed at days 3 and 7 in the control. Bone resorption was reduced by bisphosphonate-treatment at day 3. Bone resorption observed at day 7 was similar between the control and bisphosphonate-treated groups.
4. Few osteoclasts were observed at the alveolar bone in the control and bisphosphonate-treated groups at day 1. At day 3, numerous osteoclasts were shown in the control, the degree of which was reduced in bisphosphonate-treated groups.

These results suggest that the inhibition of the osteoclast formation was not the mechanism of bone resorption by the bisphosphonate-treatment during experimental tooth movement. There was no distinct cytotoxicity with a high dose of bisphosphonate. And the drug should be administrated repeatedly to maintain the inhibitory effect of bone resorption.

KOREA. J. ORTHOD. 1999 ; 29 : 95-106

* **Key words** : Tooth movement, Bisphosphonate, Acid phosphatase, LDH, Osteoclast