

Alendronate Sodium의 거식세포에서의 산화질소 유리 억제 효과

양익환 · 이수현 · 한창동

연세대학교 의과대학 정형외과학교실

목적: Alendronate sodium을 이용한 거식세포의 기능억제를 통해서 인공관절 치환술 후 야기되는 골 용해를 감소 혹은 지연시킬 수 있는 가능성과 약물의 적절한 투여기간을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법: Titanium-6% aluminum-4% vanadium (TiAlV) 금속봉과 TiAlV 금속판을 회전 연마(milling)한 후 단계적 세척, 원심분리 및 재 부유하여 TiAlV 미세입자를 제작하고, 주사 전자 현미경으로 그 크기를 확인하였다. 실험견 12마리에 1 mg/kg의 Alendronate sodium을 3개월간 경구 투여하면서 3주, 6주, 3개월에 각각 채혈하여 Lipopolysaccharide (LPS, 양성대조군), N-monomethyl-L-arginine (L-NMA, 음성대조군), 1배수와 5배수의 surface area ratio (SAR) Ti-particles를 첨가하여 24시간의 배양하였다. 이후 각 군을 Mendelow 방법을 이용하여 산화질소(Nitric-oxide) 방출량을 측정하였고, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium (MTT)에 의한 purple insoluble formazan 형성을 이용한 세포 생존율 검사를 통해 산화질소 방출량을 적정화하였다.

결과: 실험에 사용된 TiAlV 입자들의 직경은 최소 0.17 μm , 최대 4.0 μm 로 평균 $1.1 \pm 0.8 \mu\text{m}$ 였다. 1.0 μm 보다 작은 경우는 55%였고 3.0 μm 보다 작은 경우는 96%였다. 적정화 한 후 일정세포 수에서의 산화질소 방출량을 비교하였다. 대조군에 비하여 3주 투여군은 산화질소 생성이 다소 감소하였으나 통계적 의미는 없었고 6주와 3개월 투여군에서는 유의하게 산화질소 생성이 감소하였으며 두 군간의 차이는 없었다.

결론: Alendronate의 6주 이상 투여군에서 염증성 매개 유리체 중의 하나인 산화질소가 감소한 것으로 미루어, 6주 이상의 Alendronate의 투여가 인공 관절 치환술 후 혹은 추시 관찰 중 골용해를 초래하는 거식세포의 작용을 억제할 것으로 사료된다.

색인 단어: 골용해, 산화질소, 거식세포, Alendronate sodium

The Suppressive Effect of Alendronate Sodium on Nitric Oxide Release by Macrophage

Ick-Hwan Yang, M.D. Soo-Hyun Lee, M.D., and Chang-Dong Han, M.D

Department of Orthopaedic Surgery, Yonsei University, College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: This study was designed to present the effect of alendronate sodium on prevention of osteolysis after arthroplasty by suppression of macrophage.

Materials and Methods: Submicron-sized titanium particles were made from TiAlV cylinder and plate after milling, and by repeated washing, centrifugation and floating method. 12 dogs were given alendronate by oral administration for 3 months and blood was sampled at 3 weeks, 6 weeks and 3 months. Monocytes were separated from canine blood by isopycnic centrifugation with Percoll solution and cultured in media with LPS, L-NMA, TiAlV particle ($\times 1$ SAR and $\times 5$ SAR) for 24 hours. Nitric Oxide (NO) assay by Mendelow's method and MTT assay as a cell viability test were performed.

Results: Average diameter of TiAlV particles was $1.1 \pm 0.8 \mu\text{m}$ (from 0.17 to 4.0 μm). Particles less than 1.0 μm were 55% and 3.0 μm , 96%. Compared with control group, there was slight decrease of NO production in 3 weeks group with no statistic difference, but there was significant decrease in 6 weeks and 3

통신저자 : 양 익 환
서울시 강남구 도곡동 146-92
연세대학교 의과대학 영동세브란스병원 정형외과학교실
TEL : 02-3497-3416 · FAX : 02-573-5393
E-mail : ihyang@yumc.yonsei.ac.kr

Address reprint requests to
Ick-Hwan Yang, M.D.
Department of Orthopaedic Surgery, Youngdong Severance Hospital,
146-92 Dokok-dong, Kangnam-gu, Seoul 135-720, Korea
Tel: +82-2-3497-3416, Fax: +82-2-573-5393
E-mail: ihyang@yumc.yonsei.ac.kr

*본 논문은 1999년도 연세대학교 장기 해외연수 교수 연구비의 지원을 받아 이루어졌음.

months group statistically.

Conclusion: Administration of alendronate for more than 6 weeks may be effective in suppression of macrophage, prevention of osteolysis after arthroplasty.

Key Words: Osteolysis, Nitric oxide, Macrophage, Alendronate Sodium

현재 인공 관절 치환술의 가장 큰 문제점은 인공 삽입물의 마모와 이에 따른 삽입물 주위의 골용해이다. 인공 삽입물로부터 유리된 마모 입자들이 거식세포에 탐식되면 여러 가지 염증반응의 매개체들과 cytokine을 유리시키게 되는데, 이 매개 유리체들과 cytokine이 파골세포의 형성과 자극을 유발하여 골용해를 초래한다^{6,8,10,23}. 이로 인해 삽입물 주위의 골 손실 및 고정력 소실이 발생하여 결국 삽입물의 실패가 초래되는 것이다. 현재까지 이러한 문제의 해결을 위한 유일한 선택은 재치환술 뿐이었다. Alendronate sodium (4-amino-1-hydroxybutyridene)은 골다공증 치료를 위해 FDA가 승인한 bisphosphonate의 한 종류로, 활성화된 bisphosphonate는 골대사의 turnover를 줄이고 골 흡수 및 손실을 감소시키는 것으로 알려져 있다^{2-4,7,9,20}. 특히 파골세포가 골 표면으로 응집하는 것을 억제하고 파골세포의 수명을 짧게 하며 ruffled border의 손실을 유도하여 파골세포의 골 흡수를 직접 또는 간접적으로 불활성화시킨다^{12,15,17,18}. 파골세포 외에도 거식세포의 활동과 증식을 억제하는 것으로 알려져 있다^{3,4,19}. 이는 거식세포가 여러 가지 골 흡수성 매개물을 합성하는 동시에 monocyte-phagocyte system을 통해서 파골세포로 변이되기 때문에 alendronate를 이용한 거식세포 억제를 통

해 골 흡수를 예방할 수 있다고 가정할 수 있다^{20,24}. 이에 alendronate sodium을 이용한 거식세포의 억제를 통해서 인공 관절 치환술 후 야기되는 골용해를 감소 혹은 지연시킬 수 있는지와 적절한 alendronate sodium의 투여 기간을 알아보려고 하였다.

연구 대상 및 방법

1. Submicron 크기의 titanium 입자 제작

상공업적으로 사용되어지는 table top drill press에 TiAlV 금속봉(titanium-6% aluminum-4% vanadium, 길이 8.0 cm, 직경 3.0 cm, Crucible Research, Pittsburgh, PA)을 연결하고, TiAlV 금속판(10.0×9.0×1.3 cm, Crucible Research, Pittsburgh, PA)에 대하여 70 N의 압력 하에 약 300 rpm으로 회전하여 금속판에 대하여 연마하였다(Fig. 1). 막대와 금속판은 5 mg/mL의 페니실린과 50 U/mL의 스트렙토마이신(Streptomycin, GIBCO BRL, Grand Island, NY)을 함유한 증류수 약 250 mL이 들어있는 Plexiglass chamber에 둘러싸여졌다. 연마과정을 40시간 동안 시행하여 입자들을 거두어들이고, 95% 에탄올로 chamber를 세척한 후, 항생제를 함유한 증류수를 다시 채운 다음, 다시 연마를 시행하였다. 10회의 연마과정(총 400시간)을 통해 거두어들이는 입자들을 60분 동안 1,000 G (gravity)

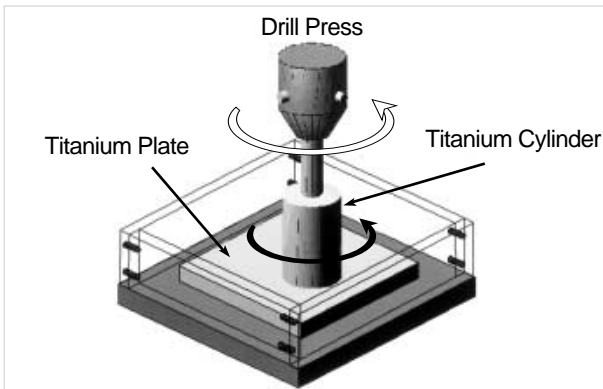


Fig. 1. TiAlV rod was connected to drill press and milled against a TiAlV plate. They were surrounded by a plexiglass chamber containing antibiotics supplemented distilled water.



Fig. 2. Scanning electronmicrograph of TiAlV particles after sedimentation (×2,000).

로 원심분리를 한 후, 95% 에탄올에 재부유 시켜 두 번의 세척과정을 시행하였다. 약 18.0 g의 TiAlIV particle을 얻었으며 이 입자들의 형태는 뾰족하거나 톱니 모양, 불규칙한 윤곽 등의 다양한 모양의 입자들이 관찰되었다 (Fig. 2). 미세 입자 분리작업 전 입자들의 크기는 최소 0.26 μm , 최대 10.5 μm 이었고 평균 직경은 $2.9 \pm 2.2 \mu\text{m}$ 였다(Fig. 3). 중형비(단직경에 대한 장직경의 비율)는 최소 1.0, 최대 7.0으로 평균 중형 비는 5.4였다. 이후 더 미세한 입자들을 분리해내기 위해서 10개의 50 mL 무균 시험관에 입자들을 나누고, 45 mL의 95% 에탄올에 입자들을 진동처리와 5분간의 초음파 처리로 재 부유한 후에 2시간 동안 자연침전을 시켰다. 침전을 통해서 큰 입자들은 가라앉히고 미세한 입자들은 부유 상태로 남아있게 한 후, 각각의 시험관으로부터 미세 입자들을 함유한 상층 액을 20 mL씩 취한 후 함께 모아서 480G에서 30분간 원심분리를 하였다. 바닥의 입자들에 대해서도 진동처리와 침전시키는 과정을 3회 반복하여 1 μm 이하의 TiAlIV 입자를 모았다. 입자들의 성상에 대한 확인 작업을 위하여 입자의 임의 표본 부유액들을 주사 전자 현미경(Philips XL-30 FEG, Mahwah, NJ)으로 secondary mode하에 형태학적 검사를 시행하였다. 다양한 모양의 크기 분석에서는, 주사 전자 현미경 사진 상 직교하는 장·단 2개의 직경을 측정한 후, 그 평균값을 각각의 입자의 직경으로 하였다. 약 150개의 입자들의 측정치수의 도수 분포와 누가 백분율을 조사하였다(Fig. 3). 약 506 mg의 미세한 submicron TiAlIV 입자들을 얻었으며 입자의 직경은 최소 0.17 μm , 최대 4.0 μm 로 평균 $1.1 \pm 0.8 \mu\text{m}$ 이었다. 1.0 μm 보다 작은 경우는 56%이

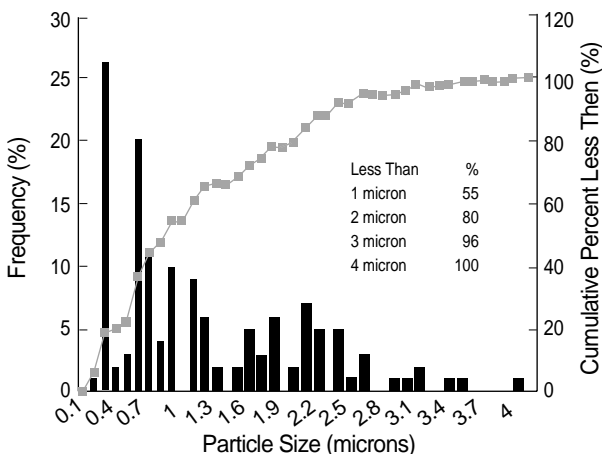


Fig. 3. Frequency distribution of TiAlIV particles.

었고, 3.0 μm 보다 작은 경우는 96%이었다. 평균 중형 비는 최소 1.0, 최대 4.2로 평균 중형 비는 1.4이었다.

2. 약물투여, 세포 분리와 배양 실험 및 측정

실험견(잡견) 12마리에게 1 mg/kg의 alendronate sodium을 3개월간 경구 투여하면서, 약물 투여 직전, 투여 후 3주, 6주, 3개월마다 각각 500 mL의 혈액을 채취하여 Percoll 용액(1.077 g/mL)의 밀도차 원심분리(isopycnic centrifugation)를 이용한 백혈구 분리 방법에 따라 단핵구(monocyte)들을 분리하였다¹³⁾. Dubelcco's Modified Eagle Medium (DMEM) 배양액에 스트렙토마이신(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 페니실린(100 U/mL) 및 10% newborn calf serum (NCS)을 혼합한 배양액을 분리된 세포들과 함께 24 chamber plate에 넣었으며, 각 chamber에는 세포수가 평균 $2.4 \pm 0.7 (1.8-4.3) \times 10^6$ 이 되도록 하였다. 실험 디자인은 각 기간마다 양성 대조군, 음성 대조군, 적정량의 TiAlIV 입자 촉발군($\times 1$ SAR; Surface Area Ratio: 세포(monocyte)가 구형이라고 가정할 때 10^6 개의 세포가 가진 표면적($1.52 \times 10^3 \text{ mm}^2$)과 같은 표면적을 갖는 입자량²²⁾), 과량의 TiAlIV 입자 촉발군($\times 5$ SAR)으로 설정하였다. 먼저 NO 방출을 최대로 촉발할 수 있는 양성 대조군으로 LPS (lipopolysaccharide from *E. Coli*, serotype 0111: B4)를 chamber당 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 첨가하였고, NO 방출을 억제하는 음성 대조군으로 L-NMA (N-monomethyl-L-arginine) 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 넣었다. 실험 군에는 각각 TiAlIV-particle ($\times 1$ SAR), TiAlIV-particle ($\times 5$ SAR)을 각각 첨가하여, 세포들을 24시간 배양하였다. Mende-

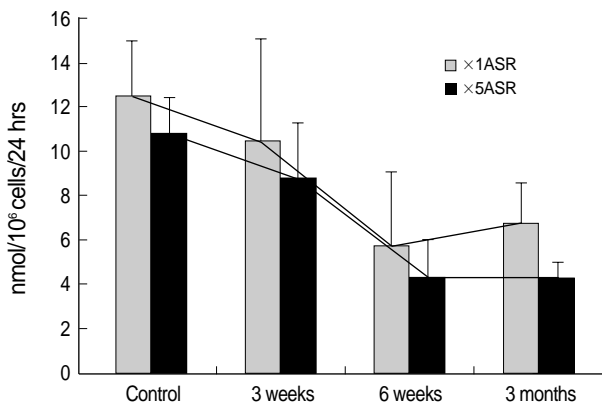


Fig. 4. Graphs showing the effect of administration period of Alendronate sodium on the release of nitric-oxide. The Values are shown as the mean and standard deviation of four measurements.

Table 1. Comparative results of Released NO during the administration of Alendronate sodium

nmol/10 ⁶ cells/24 h	control	3 weeks	6 weeks	3 months
LPS	13.6±0.7	11.4±1.1	6.8±1.6	6.7±2.3
×1 SAR	12.5±3.0	10.5±4.3	5.7±3.0	6.7±1.8
×5 SAR	10.8±1.7	8.8±2.6	4.3±1.7	4.28±0.4
L-NMA	3.2±2.2	2.7±1.8	4.2±2.0	3.3±1.4

LPS, lipopolysaccharide; L-NMA, N-monomethyl-L-arginine; SAR, surface area ratio.

low's method¹⁴⁾를 이용한 산화질소분석(Nitric Oxide assay)을 위해, 배지의 상층 액을 채취하여 동일한 양의 Griess I과 II reagent를 섞은 100 μ L의 혼합용액을 투여하고, 15-20분 후 colorimetric change analysis를 하였다. 각 시약이나 입자들의 투여 후 배지에 남은 세포들의 세포괴사의 정도와 산화질소 방출량의 차이를 적정화하기 위해서, 살아있는 세포의 미토콘드리아 효소분해 작용에 의한 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium (MTT)를 이용한 세포 생존을 검사를 하였다⁵⁾. 통계처리는 paired t-test를 이용하였다.

결 과

MTT 적정후 일정 세포수당 산화질소 방출량은 대조군에서 12.5±3.0 nmol/10⁶ cells/24 h (×1 SAR), 10.8±1.7 nmol/10⁶ cells/24 h (×5 SAR)였으며, 3주 투여군에서 10.5±4.3 nmol/10⁶ cells/24 h (×1 SAR), 8.8±2.6 nmol/10⁶ cells/24 h (×5 SAR), 6주 투여군은 5.7±3.0 nmol/10⁶ cells/24 h (×1 SAR), 4.3±1.7 nmol/10⁶ cells/24 h (×5 SAR), 3개월 투여군은 6.7±1.8 nmol/10⁶ cells/24 h (×1 SAR), 4.28±0.4 nmol/10⁶ cells/24 h (×5 SAR)였다(Table 1, Fig. 4).

대조군에 비하여 alendronate 3주 투여군은 산화질소 생성이 다소 감소하였으나, 통계학적인 의미는 없었다. 6주와 3개월 투여군에서는 통계학적으로 유의하게 산화질소 생성이 감소하였으며(p<0.005), 6주와 3개월 두 군간의 차이는 없었다.

고 찰

골용해 또는 골손실, 그리고 골용해와 동반된 무균성 해리는 인공 관절 치환술의 합병증으로 잘 알려져 있는데, 골용해가 일어난 골-삽입물 접촉면 주변의 조직 생검상 미세한 금속 입자들과 polyethylene 입자들과 함께 섬

유세포, 대식세포, 거대세포들로 구성된 육아조직들이 관찰되며, 이들이 골용해를 일으키는데 중요한 역할을 하는 것으로 보인다^{6,10,23)}. 인공 삽입물로부터 유리된 마모 입자들은 대식세포에 흡수된 후 이 세포들을 활성화시키고 여러 가지 염증반응의 매개체들을 유리시키게 되며^{3,9)}, 이 매개체들 중 cytokines (interleukin-1 β , interleukin-6)와 prostaglandin E₂ (PGE₂)가 파골세포의 형성과 자극을 유발하는 가장 중요한 것들이라고 알려져 있다^{8,9)}. 상업적으로 이용되는 순수 티타늄(titanium) 입자와 polymethylmethacrylate (PMMA)입자들이 설치류의 복막 대식세포들을 자극하고 PGE₂와 interleukin-1 (IL-1)의 유리를 유발한다는 것은 이미 입증되었다. 또한 보다 크기가 작은 입자일 때 자극 효과가 더 커지며 입자들의 조성도와 농도에 따라 자극 효과가 다르게 나타난다고 하며^{19,23)}, 순수 티타늄 입자가 PMMA나 polystyrene 입자들보다 자극 효과가 더 크다고 알려져 있다. Bennett 등¹⁾과 Haynes 등¹¹⁾은 가장 널리 쓰이는 티타늄 합금인 TiAlV이 코발트-크롬(cobalt-chromium, Co-Cr)합금보다 PGE₂, IL-1, IL-6을 유리시키는 효과가 더 크다고 하였다. Haynes 등¹¹⁾은 또한 코발트-크롬 합금이 독성이 있어서, 세포의 조기 괴사를 일으켜 cytokine의 생산을 방해한다고 하였다.

이러한 많은 연구에도 불구하고, 지금까지의 연구들은 각각의 기관마다, 입자의 크기와 농도가 동일하지 않으며, 각기 다른 세포 배양 기간과 표적 세포를 이용하였기에, 서로 비교 분석하기에 많은 문제점들을 안고 있다^{6,10,23)}. 더욱이 폴리에틸렌(polyethylene)의 자극 효과는, 인공 삽입물 주위에서 가장 많은 양이 발견되는 물질임에도 불구하고 생체 내와 비슷한 조건의 입자의 생산이 용이하지 않아, 잘 규명되어 있지 않다. 생체 내와 동일한 조건을 만들기 위하여, 인공 삽입물 주위에서 발견되는 마모 입자들과 비슷한 크기의 입자들이 실험에 이용되어야 하지만, 현재까지 인공 삽입물 주위에서 발견되는 입자들과 비슷한 submicrometer 크기의 입자의 제작이 용이하지 않아 이러한 입자들의 생물학적 반응 연구에 어려움을 겪어 왔다^{19,21)}. 이에 Yang 등²⁶⁾은 이러한 입자들의 생물학적 반응의 연구 목적으로 0.1 μ m 이하의 submicron TiAlV 입자들을 만들어내기 위한 간단하고도 비용이 적게 드는 방법을 제안한 바 있다. 입자와 연관된 생체 반응 연구의 가장 중요한 관건은 세포의 생존에 대한 입자들의

작용이다. Shanbhag 등¹⁹⁾의 보고에 의하면, TiAlV와 상업적으로 이용되는 순수 티타늄의 독성은 서로 비슷하였고, 이들은 폴리에틸렌 입자들보다 현저히 독성이 강하였다. 이것은 티타늄의 표면이 폴리에틸렌의 표면보다 세포막에 대해 더 독성이 강하다는 것을 시사한다. 순수 티타늄과 TiAlV 입자들은 생체 내 조건에서, 표면이 주로 titanium oxide로 되어 있으며, 이로 인해 생물학적 반응이 증강되어 나타난다고 보여진다¹⁰⁾.

세포 배양 후 발생하는 세포 괴사의 정도는 cytokine의 유리 정도와 상관 관계에 대한 의문점이 있는데, 자극 받지 않은 단핵구는 IL-1 α , IL-1 β , 그리고 IL-6에 대한 mRNA나 단백질들을 다량으로 함유하고 있지 않다는 것은 이미 알려져 있다^{3,4,19)}. 따라서, 이 단핵구는 다양한 cytokine에 대한 mRNA를 신속하게 전사해 낼 수 있는 능력을 갖고 있으며, 자극을 받은 후 1-3시간 내에 활성화된 cytokine을 세포 외에서 발견할 수 있다. 그러므로, 단핵구들은 이 세포 매개체들을 미리 저장하고 있는 것이 아니라 자극을 받은 후 이들을 합성하고 분비하는 것임을 알 수 있고, 이것으로 보아 cytokine의 유리는 단지 세포 손상이나 괴사의 결과는 아님을 알 수 있다^{16,20)}.

Shanbhag 등¹⁹⁾은 입자들의 조성도와 농도에 따라 각기 다른 종류의 cytokine이 유리된다는 것을 증명하여 입자에 의한 매개체들의 유리는 입자의 조성도에 따라 달라진다고 하였다. 이들의 보고에 의하면 TiAlV입자들이 염증 반응 매개체들을 유리시키는 효과가 가장 컸고, 그 다음이 상업적으로 이용되는 순수 티타늄, 폴리에틸렌의 순으로 나타났다. 티타늄 입자들은 폴리에틸렌 입자들보다 더 강력하게 매개체들을 유리시켰으나, TiAlV와 순수 티타늄의 작용은 서로 비슷하였으며, 유리된 IL-1 α , IL-1 β , 그리고 IL-6의 절대량은 각기 다르지만, 전반적인 분비 양상은 비슷하다고 보고하였다. 티타늄과 티타늄 합금 입자가 폴리에틸렌 입자보다 자극 효과가 더 크다는 사실은, 거식세포에 의해 인공 삽입물 주변에서 발생하는 골용해가 주로 폴리에틸렌 입자에 의한 것이라는 기존의 사실과 상반되는 것처럼 보인다. 그러나, 비록 티타늄과 티타늄 합금들이 보다 더 자극 효과가 크더라도, 임상적으로 실패한 인공 삽입물 주변의 조직들에는 폴리에틸렌 입자들이 수적으로 더 풍부하기 때문에, 전체적으로 폴리에틸렌의 자극 효과가 더 우세하다고 할 수 있겠다.

Bisphosphonates는 파골세포에 의한 골 흡수를 억제

하여 여러 골 질환에 사용되고 있다. Bisphosphonates는 화학적 구조와 작용기전에 따라 두 가지로 나눌 수 있는데, 첫 번째는 etidronate, clodronate나 tiludronate 같이 그들의 구조에 질소기가 없으며 독성 ATP 산물로 세포 내 대사산물로 작용하여 비교적 약한 파골세포 억제 작용 및 골 흡수 억제 작용을 갖는 그룹이며, 두 번째는 alendronate, ibandronate, olpadronate, pamidronate, risedronate, zoledronate 같이 그들의 구조식에 질소기를 포함하며 더 강력한 파골 세포 및 골 흡수 억제작용을 가진 그룹이다²⁵⁾. 이 두 번째 그룹은 mevalonate biosynthesis에서 중요한 작용을 하는 farnesyl pyrophosphate synthase를 억제하여 FPP나 GGPP의 합성을 억제하며 결국 CdC42, rho, rab같은 GTP 결합 단백질의 prenylation 억제 및 파골세포 등의 cytoskeleton의 파괴를 가져와 결론적으로 세포의 ruffled border의 소실과 활성화저해, 고사(apoptosis)를 초래한다²⁵⁾. 이 중 alendronate sodium은 이러한 작용으로 파골세포 및 거식세포의 작용을 억제하므로 관절 치환술 후 Wear에 의한 골흡수 억제에 사용될 수 있을 것으로 생각된다^{3,4,19)}.

본 실험에서는 실패한 인공관절 삽입물 주변에서 보이는 TiAlV 마모 입자와 유사한 TiAlV 입자를 인공적으로 만들어 단핵구와 반응시켜 염증성 매개물질중 하나인 NO 생성량을 통하여 alendronate의 억제 효과를 알아보고자 하였다. 3주와 6주 3개월간의 alendronate 투여를 통하여 기간과 투여량에 따라 산화질소 생성량의 감소를 가져왔으며 6주와 3개월 투여군에서 통계학적으로 유의하게 산화질소 생성량이 감소하였다. 이는 6주 이상의 alendronate 투여가 인공 관절 수술 후 wear에 의한 골흡수에 큰 작용을 하는 거식세포를 억제할 수 있음을 보여준다.

하지만 실제 환자에서의 정확한 alendronate의 투여량과 기간의 결정에는 더 많은 실험이 필요할 것으로 생각된다. 이에 계속하여 2차, 3차 연결 실험 계획으로 U937 cell line과 개의 말초혈액의 monocyte-macrophage에서 TiAlV 입자 투여 후 superoxide 생성을 측정하고, 인체 말초혈액 내 단핵구를 추출 배양해서 마모입자들을 투여 후 산화질소와 superoxide를 측정하며, 이완된 인공 관절 삽입물 주위 조직에서 추출한 단핵구와 거식세포에서 산화 질소와 superoxide를 측정하고자 하며, 마치

막으로, 인체의 거식세포(말초혈액, retrieval membrane)에 대해 alendronate 처리 후 산화질소와 superoxide를 측정하고자 한다.

결론

Alendronate의 6주 이상 투여군에서 염증성 매개 유리체 중의 하나인 산화질소가 감소한 것으로 미루어, 6주 이상의 Alendronate의 투여가 인공 관절 치환술 후 혹은 추시 관찰 중 골용해를 초래하는 거식세포의 작용을 억제할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. **Benett NE, Wang JT, Manning CA and Goldring SR:** Activation of human monocytes/macrophages and fibroblasts by metal particles; release of products with bone resorbing activities. *Trans Orthop Res Soc*, 16: 188-190, 1991.
2. **Carano A, Teitelbaum SL, Konsek JD, Schlesinger PH and Blair SC:** Bisphosphonates directly inhibit the bone resorption activity of isolated avian osteoclasts in vitro. *J Clin Invest*, 85: 456-461, 1990.
3. **Cecchini MG, Felix R, Cooper PH and Fleisch H:** Effect of bisphosphonates on proliferation and viability of mouse bone-marrow derived macrophages. *J Bone Miner Res*, 2: 135-142, 1987.
4. **Cecchini MG and Fleisch H:** Bisphosphonates in vitro specifically inhibit, among the hematopoietic series, the development of the mouse mononuclear phagocyte lineage. *J Bone Miner Res*, 5: 1019-1027, 1990.
5. **Ciapetti G, Cenni E, Pratelli L and Pizzoferrato A:** In vitro evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay. *Biomaterials*, 14: 359-364, 1993.
6. **Dowd JE, Schwendman LJ, Macaulay W, et al:** Aseptic loosening in uncemented total hip arthroplasty in a canine model. *Clin Orthop*, 319: 106-121, 1995.
7. **Fast DK, Felix R, Dowse C, Neumann WF and Fleisch H:** The effect of bisphosphonates on the growth and glycolysis of connective tissue cells in culture. *Bioch J*, 172: 97-107, 1978.
8. **Felix R, Bettex JD and Fleisch H:** The effect of diphosphonates on the synthesis of prostaglandins in cultured calvaria cells. *Calc Tissue Int*, 33: 549-552, 1981.
9. **Felix R, Russel RGG and Fleisch H:** The effect of several bisphosphonate on acid phosphohydrolase and other lysosomal enzymes. *Biochem Biophys Acta*, 429: 429-438, 1976.
10. **Goldring SR, Schiller AL, Roelke M, Rourke CM, Bringhurst FR and Harris WH:** Formation of a synovial-like membrane at the bone-cement interface: its role in bone resorption and implant loosening after total hip replacement. *Arthritis Rheum*, 29: 836-842, 1986.
11. **Haynes DR, Rogers SD, Hay S, Percy MJ, Howie DW:** The differences in toxicity and release of bone-resorbing mediators induced by titanium and cobalt-chromium-alloy wear particles. *J Bone Joint Surg*, 75-A: 825-834, 1993.
12. **Hughes DE, Macdonald BD, Russel RG and 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.
13. **Flukes AJ:** Three-step of human blood monocytes using discontinuous density gradients of Percoll. *J Immunol methods*, 41: 225-233, 1981.