

## 정자기장이 MC3T3-E1 세포의 골결절형성에 미치는 영향

김 광 덕<sup>1)</sup> · 권 오 원<sup>2)</sup> · 류 현 모<sup>3)</sup>

정자기장이 MC3T3-E1 세포의 골생성능력에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 MC3T3-E1 세포를 4well 세포배양접시에 SmCo<sub>5</sub> 영구자석을 이용하여 76.4mT의 정자기장을 가한 상태에서 5일, 7일, 11일, 15일 및 21일간 배양한 후 세포의 ALP 활성도를 측정하고 Alizarin red S 염색을 통하여 골결절양상을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 정자기장을 가한 군중 7일군, 11일군 및 15일군에서 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성도가 대조군에 비해 낮게 나타났으며 (P<0.01) 그중 11일군에서 가장 억제효과가 많았다.
- Alizarin red S 염색을 통한 골결절 양상은 11일군까지는 실험군과 대조군 모두에서 염색양상이 나타나지 않았고 15일군에서 대조군은 소량의 골결절이 염색되었으며 실험군은 골결절 염색이 되지 않았으며 21일군에서는 실험군과 대조군 모두에서 골결절이 염색되었으나 대조군에서 약간 더 염색된 양상을 나타내었다.

( 주요단어 : MC3T3-E1 세포, 정자기장, ALP 활성도, 골결절 )

### I. 서 론

교정력에 의한 치아의 이동은 염증반응을 매개로 한 치아주위조직의 적응과정이다. 즉, 치아에 가해지는 생리적인 또는 기계적인 힘은 치아 주위조직의 염증반응을 통하여 골개조과정을 포함한 조직의 재형성을 유도한다. 교정력이 치아에 가해지면 압박측은 파골세포에 의한 치조골의 파괴가 일어나고 견인측은 조골세포에 의한 골형성등이 일어나 이러한 골개조에 의해 치아의 이동이 일어난다. 골개조는 조골세포와 파골세포의 상호작용에 의해 일어나며 교정적인 치아이동에 관련된 골대사 연구에서는 조골세포와 파골세포에 대한 이해가 필수적이라고 본다.

전통적인 교정치료에 있어서의 교정력은 고무줄과

스프링등이 많이 사용되었으나 이것은 환자에게 불편감과 동통을 야기하고 그 힘이 시간과 이동거리에 따라 약화되는 단점을 가지고 있다. 보다 효과적인 교정치료를 위해서는 생물학적으로 안정되고 효율적인 힘의 조절이 필요하다. 즉, 환자에게 불편감을 주지 않고 치조골의 상실과 치근 흡수와 같은 조직의 손상 없이 가장 빨리 치아를 이동시킬수 있는 최적의 교정력이 요구된다. 최근에는 보다 나은 교정력을 얻고 고무줄과 스프링의 단점을 보완하기 위해 영구자석의 사용이 고려되고 있다. 치과영역에서의 영구자석은 1953년 Behrman과 Egan<sup>3)</sup>이 보철물의 유지를 위해 최초로 도입한 이래 다양한 임상 적용이 시도되고 있다. 교정영역에서 영구자석의 사용은 1976년 Kawata<sup>2)</sup>가 정중이개의 치료를 위해 사용하였고 그 이후 여러가지 형태의 장치로 개발되고 있다.

영구자석을 이용한 교정방법은 고무줄, 스프링, 철사등의 종래의 기계적인 방법에 비해 임상적인 용이

<sup>1)</sup> 경북대학교 치과대학 교정학교실, 대학원생

<sup>2)</sup> 경북대학교 치과대학 교정학교실, 교수

<sup>3)</sup> 경북대학교 치과대학 구강생화학교실, 조교수

성, 성능 및 유지 보수, 환자의 협조의 불필요 등 임상적 장점을 가지고 있어 이를 이용한 교정치료의 정확한 힘의 적용 증례가 보고되고 있다.<sup>6,10,17-20,22,24,26,28-30,41,44,45</sup> 그러나, 정자기장의 생물학적인 영향에 대해서는 많은 논란이 있어 왔다. 한때는 자석이 생물학적으로 위해할 수 있음이 보고되었으나<sup>35,37,39</sup> 최근에는 생물학적으로 안전하다는 연구들이 보고되고 있다.<sup>6,7,11,15,40,43</sup> Blechman과 Smiley<sup>6</sup>는 AlNiCo 자석을 고양이 치아에 부착하여 치아이동을 유도하는 실험에서 자석의 인접조직의 조직검사 결과 자석의 생체사용 시 생물학적으로 안전하다고 보고하였고, Sandler 등<sup>40</sup>은 NdFeB 자석에 의한 자기장을 rat osteosarcoma cell line인 UMR-106 세포에 가한후 conditioned medium에서 세포독성이 관찰되지 않았고 세포의 증식에도 영향을 주지 않았다고 보고하였다. 이렇듯 생물학적으로 안전하다는 보고로 임상적으로 자석의 사용이 증가하였는데 이러한 자석이 조직과 세포에 어떻게 영향을 미치는지에 대해서는 아직도 논란이 되고 있다.

자석 혹은 정자기장이 조직과 세포에 미치는 영향에 대해서는 Jones와 Ryaby<sup>27</sup>는 SmCo<sub>5</sub> 영구자석의 정자기장이 토끼의 두개골에서 배양한 조골세포에 미치는 영향을 관찰한 결과 30mT의 정자기장에서 5일동안 노출시켰을 때 ALP 합성량이 두배정도 증가된다고 보고한 반면, Papadopoulos 등<sup>38</sup>은 정자기장이 쥐의 두개골에서 배양한 조골세포에 미치는 생물학적 효과를 관찰한 결과 178mT 정도의 정자기장에서 21일간 노출시켰을 때 ALP 활성도는 변화되지 않는다고 보고하였다. 그러나, Gorczynska와 Wegrzynowicz<sup>25</sup>는 쥐에서 정자기장이 여러 가지 효소에 미치는 영향을 관찰한 결과 8mT와 150mT의 정자기장에서 7주간 노출시켰을 때 ALP 활성도가 억제된다고 보고하였다. 그리고 Camilleri와 McDonald<sup>14</sup>는 정자기장이 세포분열을 억제시킨다고 보고하였고, McDonald<sup>36</sup>는 정자기장이 신생쥐의 두개골에서 배양한 조골세포, 섬유아세포에 미치는 영향을 알아본 결과 섬유아세포에서는 turnover rate와 합성이 촉진되었으나 조골세포에서는 변화가 없음을 관찰하고 세포에 따라 다른 영향을 미친다고 보고하였다. Linder-Aronson과 Lindskog<sup>34</sup>는 인간의 치주인대 섬유아세포의 세포 성장과 부착에 대해 정자기장이 미치는 영향을 *in vitro*로 연구한 결과 5주 정도에서 세포 부착과 성장이 현저하게 감소되어 나타남을 관찰하고 정자기장 그 자체가 세포의 필수적인 기능에 영향을 미

치는 것으로 보고하였다. 이렇듯이 아직 생물학적인 면에서 자기장의 효과에 관하여 서로 다른 의견이 있으며 부정적인 견해도 있으므로 많은 연구가 필요하다고 사료되며, 특히 교정학 영역에서는 자기장이 조골세포에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 필요하다.

이에 본 연구는 현재 사용되고 있는 SmCo<sub>5</sub> 자석을 이용하여 정자기장을 MC3T3-E1 세포에 가할 때 골생성능력에 어떠한 영향을 미치는지 조골세포 분화의 척도인 ALP 활성도와 광화골결절의 형성정도를 통하여 알아보려 한다.

## II. 재료 및 방법

### 재 료

MC3T3-E1세포,  $\alpha$ -minimum essential medium ( $\alpha$ -MEM) (Gibco사, 미국), fetal bovine serum (Gibco사, 미국), trypsin, bovine serum albumin, sodium parantrophenyl 1-2 phosphate, parantrophenol, nonidet P-40 (이상 Sigma사, 미국), Alizarin red S, 4 well tissue culture plastic dishes (Costar사, 미국), SmCo<sub>5</sub> 영구자석(태평양 금속(주), 한국)을 사용하였다. 기타 시약들은 시판되는 일급 시약들을 구입하여 사용하였다.

### 방 법

#### 1. 세포의 배양

본 연구에 사용되는 세포는 조골세포주 MC3T3-E1이었으며 Kodama 등<sup>31</sup>에 의해 신생쥐 (C57B 16)의 두개골에서 분리되어 계대배양된 세포로서 염기성 인산분해효소(ALP) 활성과 교원질 합성능이 있으며, 장기간 배양하면 골기질의 석회화뿐만 아니라 조골세포와 골세포로의 분화를 관찰할수 있다.

세포들을 100mm 세포배양접시에 10% fetal bovine serum(FBS), penicillin 100U/ml, streptomycin 100  $\mu$ g/ml, fungizone 5  $\mu$ g/ml가 포함된  $\alpha$ -minimum essential medium ( $\alpha$ -MEM) 10ml에 넣고 37°C, 95% 습도, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 그후 4 well culture plate에 세포를 well당 10,000개로 seeding한후 50  $\mu$ g/ml의 ascorbic acid와 10mM의  $\beta$ -glycerophosphate ( $\beta$ -GP, Sigma사, 미국)을 포함한  $\alpha$ -MEM에서 배양하였으며 배지는 2일마다 갈아

주었다.

2. 자석의 사양 및 자장의 세기 측정

본 실험에 사용한 자석은 직경 2mm의 구멍이 뚫린 직경 6.5mm, 두께 1mm의 SmCo<sub>5</sub> 영구자석(태평양 금속(주), 한국)이다.

세포 배양접시에 가해지는 정자기장의 세기는 teslameter(KOSHAVA 3, Wuntronic사, 독일)를 사용하여 측정하였으며, 자석의 개수는 본 교실에서 2년간 시행한 자석실험결과 SmCo<sub>5</sub> 영구자석 두 개를 사용한 것이 ALP 활성도에 가장 유의성 있게 영향을 주어서 두 개의 자석을 사용하였고<sup>1,2)</sup> 이때 각 well에 가해지는 평균 자속은 76.4mT(SD 3.2)였다.

3. 정자기장의 형성 및 실험방법

4 well 세포배양접시에 세포를 well당 10,000개로 접종하고, 그 후 각 2개의 자석(SmCo<sub>5</sub>)을 세포배양접시의 상,하로 가한 실험군을 ALP 활성도를 보기위한 것과 골결절 형성을 보기위해 Alizarin red S 염색을 하기위한 것을 각각 5군, 그리고 자석을 가하지 않은 대조군을 각각 5군으로 나누었다.

자석을 가한 실험군에서 각각 조건을 준 후 5일, 7일, 11일, 15일 및 21일후 조건을 멈추고 세포를 회수하여 다음 실험을 시행하였다.

4. ALP 활성도의 측정

세포층의 ALP 활성도는 Bessay 등<sup>5)</sup>과 Burch 등<sup>13)</sup>의 방법을 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 조건을 준 세포배양접시의 배양액을 제거하고 찬 PBS로 3번 씻은 후 측정할때까지 -20℃에서 보관하였다. 얼음위에서 기질(PNPP ; sodium paranitrophenyl- 2-phosphate)을 준비하고 세포층에 lysis 완충액(0.02% Nonident F-40)을 1ml 넣어 30초간 초음파 마쇄기로 마쇄한 다음 14000 rpm에서 원심분리하여 그 상층액 중 300μl를 취하여 ALP의 활성도를 측정하였다. 이때 표준용액으로는 paranitrophenol을 30nmol까지 되도록 하여 넣고 37℃에서 30분간 반응시킨 뒤 1N의 NaOH 250μl를 넣어 반응을 중단시켰다. 이것을 410nm에서 분광광도계(Gilford사, 미국)로 흡광도를 측정하였다. 그리고 단백질양은 상층액중 100μl를 취하여 BCA protein assay kit(Pierce사, 미국)로 측정하였다. 표준용액으로는 bovine serum albumin(BSA)을 1.0mg/ml까지 되도록 하여 넣고 working reagent(BCA protein assay kit)를 1ml씩 첨가해 60

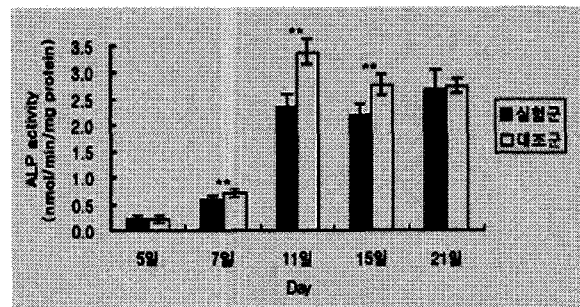


Fig. 1. Effect of static magnetic field on alkaline phosphatase activity in MC3T3-E1 Cell. (n=4)  
\*\* significantly different from those of control values(P<0.01).

℃에서 30분간 반응시킨 뒤 얼음위에서 반응을 중단시켰다. 이것을 562nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. ALP의 활성도는 nmole/min/mg protein 단위로 나타내었다.

5. Alizarin red S 염색법에 의한 골결절 염색

세포에 의한 골결절형성을 관찰하기 위해 Dahl<sup>16)</sup>이 사용한 Alizarin red S에 의한 calcium 염색법을 사용하여 골결절을 염색하였다. 이 방법은 Bellows 등<sup>4)</sup>이 골결절을 염색하는데 사용하였다.

정량화를 위해 먼저 배양액을 제거하고 PBS로 3회 세척하고 10% buffered formalin에서 1시간 30분간 고정하고 Alizarin red S로 30분간 염색한후 1% acetic acid solution으로 1번 더 세척하였다. 그후 glycerol을 3-4방울 넣고 냉장보관하였다.

골결절양상은 culture dish를 도립위상차현미경으로 40배, 100배, 200배등으로 확대하여 관찰하였다.

6. 통계처리

SAS 통계 프로그램을 이용하여 대조군과 실험군의 ALP 활성도의 평균치 및 표준편차를 구하였고 대조군과 실험군 간의 평균치 차이의 유의성 검정은 t-test로 시행하였다.

III. 실험결과

1) Biochemical analysis

각 군의 ALP 활성도의 평균 및 표준편차는 Table

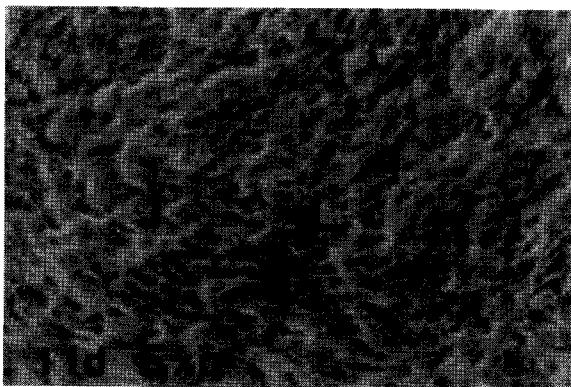


Fig. 2

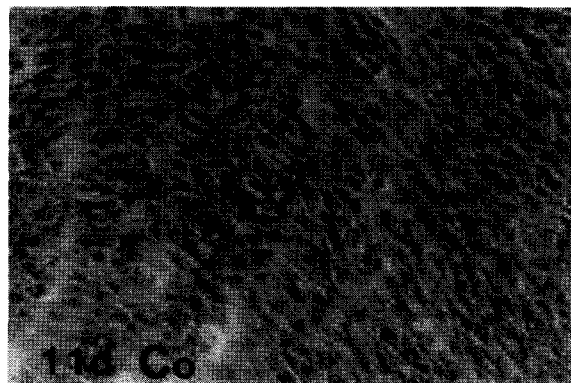


Fig. 3

Fig. 2-3 Phase contrast micrographs of Alizarin red S staining of MC3T3-E1 cells exposed to a static magnetic field for 11 days. Stained bone nodules were not observed in both the experimental(Exp) and the control(Co) group ( $\times 100$ ).

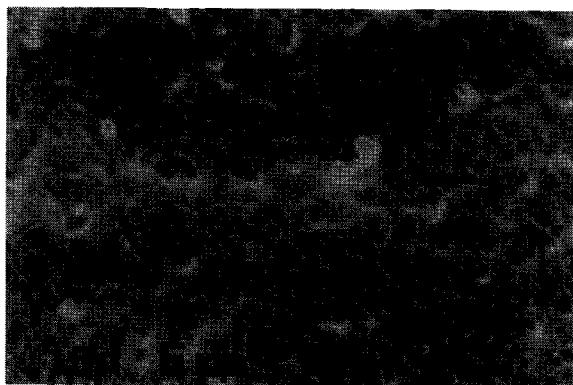


Fig. 4



Fig. 5

Fig. 4-5 Phase contrast micrographs of Alizarin red S staining of MC3T3-E1 cells exposed to a static magnetic field for 15 days. Stained bone nodules were observed in the control group, but not observed in the experimental group ( $\times 100$ ).



Fig. 6

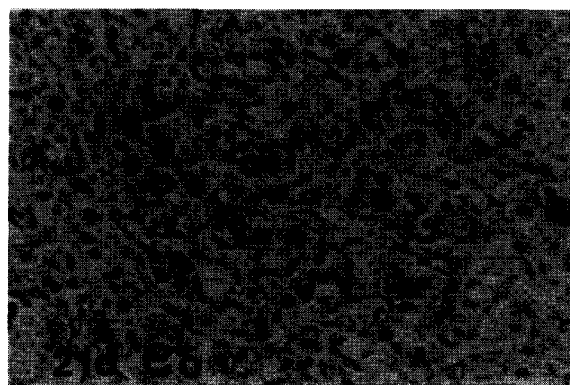


Fig. 7

Fig. 6-7 Phase contrast micrographs of Alizarin red S staining of MC3T3-E1 cells exposed to a static magnetic field for 21 days. Stained bone nodules were observed in both groups, but the control group has more stained bone nodules than the experimental group ( $\times 100$ ).

**Table 2.** Effect of static magnetic field on alkaline phosphatase activity in MC3T3-E1 Cell

| DAY | CO            | EXP              |
|-----|---------------|------------------|
| 5   | 0.211 (0.024) | 0.226 (0.024)    |
| 7   | 0.722 (0.027) | 0.587 (0.055) ** |
| 11  | 3.373 (0.269) | 2.340 (0.249) ** |
| 15  | 2.775 (0.218) | 2.201 (0.178) ** |
| 21  | 2.753 (0.140) | 2.683 (0.409)    |

(n=4) (Unit: nmol/min/mg protein)

\*\* : significantly different from control value(P<0.01)

CO : Control group, EXP : Static Magnetic Field group (mean 76.4mT)

The Values are presented as the mean ( S.D.) for quadruplicate cultures.

The alkaline phosphatase activities were expressed as nmol/min/mg protein.

For the experiment,  $1 \times 10^4$  cells/well of 4 well plates were cultured with(Exp) or without(Co)

application of 76.4 mT of continous magnetic field for designated periods.

2과 Fig. 1에 나타내었다. 정자기장을 가한 5일군과 21일군은 대조군에 비해 유의한 차이가 없었지만 7일군, 11일군, 15일군에서는 대조군에 비해 ALP 활성도가 낮게 나타났으며 (P<0.01), 11일군에서 가장 차이가 많았다.

## 2) Histochemical analysis

각 군의 골결절 형성을 관찰하기 위한 Alizarin red S 염색법에 의한 염색 결과는 Fig. 2에서 Fig. 7까지에 나타내었다( $\times 100$ ). 11일군까지는 실험군과 대조군에서 모두 골결절이 전혀 염색되지 않았고(Fig. 2, Fig. 3), 15일군에서는 대조군에서 약간의 골결절이 보이나(Fig. 5) 실험군에서 골결절이 염색되지 않았다(Fig. 4). 21일군에서는 실험군과 대조군 모두에서 골결절이 염색되었으나 대조군에서 약간 더 염색된 양상을 나타내었다(Fig. 6, Fig. 7).

## IV. 고 찰

영구자석을 이용한 교정적인 치아이동은 전통적인

교정치료에 사용되는 고무줄, 스프링, 철사등의 방법에 비하여 동통이나 불편감이 감소되고, 급속한 치아이동시 치아동요도가 감소되며 환자의 협조도가 필요치 않는 등의 많은 장점을 가진다고 보고된바 있어 이를 이용한 교정치료의 정확한 힘의 적용증례가 보고되고 있다. 이러한 자석을 임상적으로 응용한 증례는 공간의 폐쇄, 구치부의 후방이동, 구치부 함입, 구개의 확장, 성장조절, 매복치 견인등 여러가지 방법으로 보고되고 있다. 이에 자석 및 자기장이 조직 및 세포에 미치는 영향에 대한 연구가 많이 시행되어져 왔다. 그런데 자석과 자기장이 조직 및 세포에 무해함을 입증하는 연구는 많았고 무해함이 입증되었으나 세포수준에서 미치는 영향에 대해서는 여러 가지로 논란이 많았다.

Vardimon 등<sup>44)</sup>은 정자기장의 골대사 촉진으로 교정치료시 치근흡수와 같은 부작용을 감소시킨다고 보고하였고, Kawata 등<sup>30)</sup>은 자석의 힘이 치아를 직접 움직이는 것 이외에 부가적으로 전류를 발생시키는 데 이 전류가 치조골을 개조시킨다고 하였다. 또한 Gerling 등<sup>23)</sup>과 Stark와 Sinclair<sup>42)</sup>는 맥동전자기장은 혈류의 증가와 골대사를 촉진시킨다고 하였으며, Darendeliler 등<sup>21)</sup>도  $SmCo_5$ 의 정자기장과 맥동전자기장이 교정적 치아이동의 속도와 양을 모두 증가시키며 이때 인장력이 가해지는 부위에 골의 침착과 기질이 증가하고 자기장을 가한 군에서 혈중의 칼슘이 감소되며 이것이 칼슘의 국소 침착으로 골생성능력을 증가시키는 것을 나타낸다고 하였다. Gorczynska와 Wegrzynowicz<sup>25)</sup>는 쥐에서 정자기장이 여러 가지 효소에 미치는 영향을 관찰한 결과 8mT와 150mT의 정자기장에서 ALP 활성도가 억제된다고 하였다. 이러한 결과는 본 실험에서의 ALP 활성도 억제와 같은 결과이고 정자기장이 효소체계에 미치는 효과에 특이성이 있을것으로 생각된다. Sandler 등<sup>40)</sup>은  $SmCo_5$  자석과 다른 물리적, 화학적 성질을 갖는 NdFeB 자석을 이용하여 조골세포 양상의 세포에 미치는 효과를 조사한 결과 UMR-106 세포의 증식에 정자기장은 효과가 없었으며, 세포독성도 관찰되지 않았다고 하였다. Linder Aronson과 Lindskog<sup>32)</sup>은 정자기장이 상피재생을 억제하여 영구자석 하방의 상피두께가 감소하였으며 골흡수가 촉진된다고 하였는데 이러한 골흡수의 증가는 골표면에 있는 조골세포의 억제에 의한 것이라고 하면서 이러한 골흡수의 증가가 이전에 보고된 급속한 치아이동을 설명해 주는것이라고 하였다. 본 연구에서는 비록 in vitro 실험이지만 골결

질 형성을 억제시켜주어 위의 실험과 유사한 결과를 나타내었다. Camilleri와 McDonald<sup>14)</sup>는 100mT의 정자기장을 발생시키는 NdFeB 자석을 사용하여 관찰한 결과 정자기장이 골의 재형성에 영향을 미치는지 Tc 형광법으로 검사한 결과 큰 변화가 없음을 관찰하였고, thymidine의 uptake는 중요한 수준으로 억제시켜 어느정도 세포분열을 억제시킨다고 보고하였다. 그리고 이 보고에서 저자들은 자기장이 세포에 영향을 미치는 기전으로 몇가지를 설명하고 있는데, 이론적으로 효소체계는 자기장에 의해 영향을 받는 free radical intermediate stage를 포함하고 있다. 자기장은 이러한 이온 반응에 “휘젓는” 효과를 가지며 이러한 효과로 몇몇 반응은 속도가 빨라진다고 설명하고 있다. 그리고 자장이 차이 나면 자기장 주위의 산소 분자가 재분포되어 마치 고농도 산소하에 발생하는 조직에 독성을 나타내듯이 정자기장이 성장과 발생에 영향을 미친다고 설명하고 있다. McDonald<sup>36)</sup>는 neodymium 자석의 정자기장이 세포수준에서 어떤 영향을 미치는지 in vitro에서 실험한 결과 조골세포와 섬유아세포에 450mT의 자기장을 노출후 검사한 결과 섬유아세포에서는 turnover rate와 합성이 촉진되었으나 조골세포에서는 변화가 없음을 관찰하면서 정자기장의 영향이 세포에 따른 차이가 있을 것이라고 하였다. 본 교실에서 시행한 두 번의 실험<sup>12)</sup>에서 정자기장을 MC3T3-E1 세포와 치주인대세포에 10일간 정자기장을 노출시켰을 때 치주인대세포에서는 ALP 활성도를 증가시켰으나 MC3T3-E1 세포에서는 ALP 활성도를 억제시킨 결과를 나타내어 정자기장의 영향이 역시 세포에 따른 차이가 있을 것으로 생각되었다. Linder-Aronson과 Lindskog<sup>34)</sup>은 정자기장이 인간의 치주인대 섬유아세포의 세포 성장과 부착에 대해 조사한 결과 107-230mT의 정자기장에서 배양시킨 결과 5주 정도에서 세포 부착과 성장이 현저하게 감소된다고 보고하면서 정자기장 자체가 세포의 필수적인 기능에 영향을 미친다고 하였다. Yamaguchi 등<sup>46)</sup>은 자화된, 그리고 비자화된 lanthanide계열의 합금이 mouse L 세포의 성장에 미치는 영향을 알아본 결과 자화와 비자화에 관계없이 세포의 성장을 강하게 억제시키며 자화된 것이 더 강하게 억제시키는 반면, 핵내의 DNA 양은 자화된 합금에 의해서는 변화되지 않았으나 비자화 합금에 의해 저명하게 감소됨을 보고하였다. Papadopoulos 등<sup>38)</sup>은 정자기장이 조골세포에 미치는 생물학적인 효과를 관찰한 결과 조골세포 배양시 178mT 정도의 정자기장

을 가했을 때 ALP 활성도가 변화가 없음을 보고하였다. 하지만, Jones와 Ryaby<sup>27)</sup>는 SmCo<sub>5</sub> 영구자석의 자기장이 조골세포에 미치는 영향을 관찰한 결과 300 gauss(30mT)의 정자기장에서 ALP 합성량이 두배 정도 증가되었다고 보고하였으며, 24 gauss가 가장 효과적이라고 하였다. 그러나, 본 실험에서는 조골세포 배양시 76.4mT 정도의 정자기장을 가했을 때 ALP 활성도가 감소하였다. 이러한 차이는 세포의 배양시 가해지는 자장의 세기의 차이에 의한 것이라고 생각된다.

이렇듯 서로 다른 결과를 나타내는 실험결과에 관하여 Blechman<sup>8)</sup>은 영구자석의 생물학적 효과영역(bioeffect field)은 자석의 자속을 감소시켜야 양의 방향으로 증가한다고 하면서 Camilleri와 McDonald<sup>14)</sup>가 사용한 100mT의 자속은 과도한 힘이라고 하면서 Jones와 Ryaby<sup>27)</sup>의 결과를 지지하였다. 또한 Bruce 등<sup>12)</sup>은 100mT보다 5배 낮은 22-26mT 정도의 field에서 골절치유를 증가시켰음을 보고하였다. Blechman<sup>8,9)</sup>은 자석이 힘의 영역(force field)과 생물학적 효과영역(bioeffect field)을 동시에 제공하는데 힘의 영역에 의한 효과는 이미 교정적인 치아이동에서 많은 장점이 있다고 알려졌으나 생물학적 효과영역은 완전히 밝혀지지 않았으나 이에 대한 규명이 중요하다고 하였다. 그는 자기장이 세포에 영향을 미치는 기전을 세포막을 통한 Ca 이온 확산 속도의 증가라고 하였다. 기본적으로 세포막은 자기장의 초기 신호전달장소이며 이러한 신호가 세포막을 통해 증폭되어지고 효소의 인산화를 가속화시키고 이것이 단백질을 활성화하여 어떠한 세포의 기능에 영향을 미친다고 설명하고 있다. 이러한 생물학적 효과가 양의 방향의 효과를 나타내기 위해서는 자속을 감소시키는 것이 필수적이라고 하였다. Blechman<sup>8)</sup>은 임상에서의 장점을 급속한 치아이동시 동요도와 불편감의 감소는 골생성능력이 증가되는 것으로 설명할 수 있다고 하였다. 이때 그는 이런 낮은 자속에서만 골생성 속도를 가속화시키는 생물학적 효과를 나타낸다고 하였다. 그러나 Camilleri와 McDonald<sup>14)</sup> 그리고 Linder-Aronson과 Lindskog<sup>32,33,34)</sup>는 모두 100-200mT 정도의 높은 자속이 임상적인 적용에 맞는 자속이고 이때는 세포분열과 성장, 부착능등이 억제된다고 하였다.

이처럼 정자기장이 세포 수준에서 미치는 효과에 대해서는 많은 논란이 있어 왔고 현재도 그러한 논란은 계속이다. 따라서 본 실험은 조골세포의 특성을 잘 나타내고 있는 MC3T3-E1 세포에 정자기장을 가하

여 골생성능력에 어떠한 영향을 미치는지 골대사의 척도인 ALP 활성도와 Alizarin red S 염색을 통하여 골결절 양상을 알아보기 위해 시행하였다. 본 실험에서는 정자기장 형성을 위해 SmCo<sub>5</sub> 영구자석을 4 well 세포배양접시 상하에 두 개씩 견인되는 방향으로 사용하였으며 이때 76.4mT의 자장이 형성되었다. 이러한 자장은 본교실에서 2년간 시행한 자석실험결과 SmCo<sub>5</sub> 영구자석 2개를 가한군이 ALP 활성도에 가장 유의성 있게 영향을 주어서 2개의 영구자석을 사용하였고<sup>1,2)</sup> 이때의 자장의 평균이 76.4mT였다. 그리고 자석을 가한 군과 대조군을 각각 5일, 7일, 11일, 15일, 21일까지 배양한 결과 ALP 활성도는 7일, 11일, 15일군에서 실험군이 대조군에 비해 억제되었으며 그중 15일군에서 가장 많이 억제되었다. 그리고 Alizarin red S로 골결절을 염색하여 본 결과 11일군까지는 실험군, 대조군 모두에서 염색되지 않았으나 15일군에서 대조군에서만 소량의 골결절이 염색되었고 21일군에서는 실험군, 대조군에서 모두 골결절이 염색되었으나 대조군에서 약간 더 염색된 양상을 나타내었다. 따라서 이러한 연구 결과는 정자기장이 MC3T3-E1 세포에 영향을 미치며 치아이동에 영향을 줄수 있다는 가설을 뒷받침할수 있는 중요한 결과로 생각된다.

그러나 영구자석을 사용하면 치아이동이 빠르다고 하는 여러 연구가 있지만 실제 치아이동에서는 여러 가지 효소와 세포간 대사물질이 서로 영향을 미치므로 정자기장의 다양한 세기에 따른 효과에 대하여 향후 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. 그리고 이러한 정자기장이 어떤 세포에 혹은 어떤 효소체계에 선택적으로 작용하는지에 대해서도 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이상의 결과 정자기장이 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성도와 골결절 형성을 감소시켜 골조직의 성장 및 개조에 영향을 미칠수 있을 것으로 생각된다. 그러나 자장의 세기에 따라 세포의 성장 및 효소반응등에 촉진, 억제, 혹은 영향이 없다는 엇갈리는 보고가 있고 여러가지 실험 조건과 각기 다른 세포, 효소체계에 대해 다양하게 발표되므로 향후 자기장이 치아이동 및 인체에 영향을 미치는 기전을 정확히 규명하기 위해 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 요 약

정자기장이 MC3T3-E1 세포의 골생성능력에 어떠한

영향을 미치는지 알아보기 위하여 MC3T3-E1 세포를 4well 세포배양접시에 SmCo<sub>5</sub> 영구자석을 이용하여 76.4mT의 정자기장을 가한 상태에서 5일, 7일, 11일, 15일 및 21일간 배양한 후 세포의 ALP 활성도를 측정하고 Alizarin red S 염색을 통하여 골결절양상을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 정자기장을 가한 군중 7일군, 11일군 및 15일군에서 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성도가 대조군에 비해 낮게 나타났으며 (P<0.01) 그 중 11일군에서 가장 억제효과가 많았다.
- Alizarin red S 염색을 통한 골결절 양상은 11일군까지는 실험군과 대조군 모두에서 염색양상이 나타나지 않았고 15일군에서 대조군은 소량의 골결절이 염색되었으며 실험군은 골결절 염색이 되지 않았으며 21일군에서는 실험군과 대조군 모두에서 골결절이 염색되었으나 대조군에서 약간 더 염색된 양상을 나타내었다.

## 참고문헌

1. 손정희 : 정자기장과 맥동정자기장이 MC3T3-E1 세포의 ALP 및 DNA 활성도에 미치는 영향, 경북대학교 치의학박사 학위논문, 1995.
2. 장우현 : 정자기장이 배양치주인대세포의 Alkaline Phosphatase 활성도에 미치는 영향, 경북대학교 치의학석사 학위논문, 1995.
3. Behrman, S.J. and Egan, G. : Implantation of magnets in the jaw and denture retention, New York State Dental Journal, 19 : 353-71, 1953.
4. Bellows, C.G., Aubin, J.E., Heersche, J.N.M., and Antosz, M.E. : Mineralized bone nodules formed in vitro from enzymatically released rat calvaria cell populations. Calcif. Tissue Int., 38 : 143-154, 1986.
5. Bessay, O.A., Lowry, O.H., and Brock, M.J. : A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with fibecubic millimeters of serum, J. Biol. Chem., 164 : 321-9, 1946.
6. Blechman, A.M., and Smiley, H. : Magnetic force in orthodontics, Am. J. Orthod., 74 : 435-43, 1978.
7. Blechman, A.M. : Magnetic force systems in orthodontics, Am. J. Orthod., 87 : 201-10, 1985.
8. Blechman, A.M. : Comment on static magnetic field bioeffects, Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop., 104 : 20A-22A, 1993.
9. Blechman, A.M., and Steger, E.R. : A possible mechanism of action of repelling molar distalizing magnets. Part I, Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop., 108 : 428-431, 1995.

10. Bondemark, L., and Kurol, J. : Distalization of maxillary first and second molars simultaneously with repelling magnets, *Europ. J. Orthod.*, 14 : 264-72, 1992.
11. Bondemark, L., Kurol, J., and Wennberg, A. : Biocompatibility of new, clinically used, and recycled orthodontic samarium-cobalt magnets, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 105 : 568-74, 1994.
12. Bruce, G.K., Howlett, C.R., and Luckstep, R.L. : Effect of a static magnetic field on radius, *Clin. Orthop.*, 222 : 300-6, 1987.
13. Burch, W.M., and Leovovitz, H.E. : In vitro stimulation of alkaline phosphatase activity in immature embryonic chick pelvic cartilage by adenosine 3',5'-monophosphate, *J. Cell Biol.*, 93 : 338-42, 1982.
14. Camilleri, S., and McDonald, F. : Static magnetic field effects on the sagittal suture in *rattus norvegicus*, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* 103 : 240-6, 1993.
15. Cerny, R. The reaction of dental tissues to magnetic fields, *Aust. Dent. J.*, 25 : 264-8, 1980.
16. Dahl, L.K. : A simple and sensitive histochemical method for calcium, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 80 : 474-479, 1952.
17. Darendeliler, M.A., and Joho, J.P. : Class II bimaxillary protrusion treated with magnetic forces, *J. Clin. Orthod.*, 26 : 361-8, 1992.
18. Darendeliler, M.A., and Joho, J.P. : Magnetic activator device II ( MAD II ) for correction of class II, division 1 malocclusion, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 103 : 223-39, 1993.
19. Darendeliler, M.A., Chiarini, M., and Joho, J.P. : Early class III treatment with magnetic appliances, *J. Clin. Orthod.*, 27 : 563-9, 1993.
20. Darendeliler, M.A., Yuksel, S., and Meral, O. : Open-bite correction with magnetic activator device IV, *J. Clin. Orthod.*, 29 : 569-76, 1995.
21. Darendeliler, M.A., Sinclair, P.M., and Kusy, R.P. : The effects of samarium-cobalt magnets and pulsed electromagnetic fields on tooth movement, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 107 : 578-88, 1995.
22. Dellinger, E.L. : A clinical assessment of the active vertical corrector- A nonsurgical alternative for skeletal open bite treatment, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 89 : 428-36, 1986.
23. Gerling, J.A., Sinclair, P.M., and Roa, R.L. : The effect of pulsating electromagnetic field on condylar growth in guinea pigs, *Am. J. Orthod.*, 87 : 211-23, 1985.
24. Gianelly, A.A., Vaitas, A.S., Thomas, W.M., and Berger, D.G. : Distalization of molars with repelling magnets, *J. Clin. Orthod.*, 22 : 40-4 1988.
25. Gorczyńska, E., and Wegrzynowicz, R. : Effect of static magnetic field on some enzymes activities in rat, *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 33 : 149-55, 1989.
26. Itoh, T., Tokuda, T., Kiyosue, S., Hirose, T., Matsumoto, M., and Chaconas, S. : Molar distalization with repelling magnets, *J. Clin. Orthod.*, 25 : 611-7, 1991.
27. Jones, D.B., and Ryaby, J.T. : Low energy time varying electromagnetic field interactions with cellular control mechanisms. In ; Block M, Findl E, eds. Mechanistic approaches to interactions of electric and electromagnetic fields with living systems, New York : Plenum Press, : 389-97, 1987.
28. Karla, V., Burstone, C.J., and Nanda, R. : Effects of a fixed magnetic appliance on the dentofacial complex, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 95 : 467-78, 1989.
29. Kawata, T., Matsuga, M., Kitano, N. and Kishigami, H. : Further study of new orthodontic treatment with a magnetic appliance, *J. Dent. Res.*, 57 : 175(Abstract 402), 1978.
30. Kawata, T., Hirota, K., Sumitani, K., Umehara, K., Yano, K., Tzeng, H.J., and Tabuchi, T. : A new orthodontic force system of magnetic brackets, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 92 : 241-8, 1987.
31. Kodama, H., Amagai, Y., Sudo, H., Kasai, S. and Yamamoto, S. : Establishment of a clonal osteogenic cell line from newborn mouse calvaria, *Jpn. J. Oral Biol.*, 23 : 899-901, 1981
32. Linder-Aronson, S., and Lindskog, S. : A morphometric study of bone surfaces and skin reactions after in rats, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 99 : 44-8, 1991.
33. Linder-Aronson, S., Lindskog, S., and Rygh, P. : Orthodontic magnets: effects on gingival epithelium and alveolar bone in monkeys, *Europ. J. Orthod.*, 14 : 255-63, 1992.
34. Linder-Aronson, A., and Lindskog, S. : Effects of static magnetic fields on human periodontal fibroblasts in vitro, *Swed. Dent. J.*, 19 : 131-7, 1995.
35. Malinin, G.I., Gregory, W.D., Morelli, L., Sharma, V.K., and Hench, J.C. : Evidence of morphological and physiological transformation of mammalian cells by strong magnetic fields, *Science*, 194 : 844-6, 1976.
36. McDonald, F. : Effect of static magnetic fields on osteoblasts and fibroblasts in vitro, *Bioelectromagnetics*, 14 : 187-96, 1993.
37. Mulay, I.L., and Mulay, L.N. : Effect of a magnetic field on sarcoma 37 ascites tumor cells, *Nature*, 190 : 1019, 1961.
38. Papadopoulos, M.A., Horler, J., Gerber, H., Rahn, B.A., and Rakosi, T. : Biologic effects of static magnetic fields on osteoblast, *Eur. J. Orthod.*, 12 : 490, 1990.
39. Reno, V.R., and Nutini, L.G. : Effect of magnetic fields on tissue respiration, *Nature*, 198 : 204-5, 1963
40. Sandler, P.J., Meghji, S., Murray, A.M., Springate, S.D., Sandy, J.R., Crow, V., and Reed, R.T. : Magnets and orthodontics, *Br. J. Orthod.*, 16 : 243-9, 1989.
41. Sandler, P.J. An attractive solution to unerupted teeth, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 100 : 489-93, 1991.
42. Stark, T.M., and Sinclair, P.M. : Effect of pulsed electromagnetic fields on orthodontic tooth movement, *Am. J.*



- Orthod. Dentofac. Orthop., 91 : 91-104, 1987.
43. Tsutsui, H., Kinouchi, Y., Sasaki, H., Shiota, N., and Ushita, T. : Studies on the Sm-Co magnet as a dental material, J. Dent. Res., 58 : 1597-606, 1979.
44. Vardimon, A.D., Graber, T.M., Voss, L.R., and Verrusio, E. : Magnetic versus mechanical expansion with different force thresholds and points of force application, Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop., 92 : 455-66, 1987.
45. Vardimon, A.D., Graber, T.M., Drescher, D., and Bourauel, L. : Rare earth magnets and impaction, Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop., 100 : 494-512, 1991.
46. Yamaguchi, H., Kaku, M., Yonezu, T., Hosokawa, K., Soda, A., Ikehara, T., Yakahashi, A., Miyamoto, H., Kinouchi, Y., and Nakabayashi, I. : Effects of magnetized and non-magnetized lanthanide alloys on cell growth of culture cells, Paper No. 17P0405 at the 10th International Workshop on Rare-Earth Magnets and Their Applications, Kyoto, Japan, 16-19 May, 1989 (Proceedings Book: The Society of Non-Traditional Technology, 1-2-8, Toranomon, Minato-ku, Tokyo, 105 Japan)

- ABSTRACT -

## The Effect of A Static Magnetic Field on The Bone Nodule Formation of MC3T3-E1 Cells

Kwang-Duk Kim, D.D.S., Oh-Won Kwon, D.D.S., M.S.D., Ph.D., Hyun-Mo Ryu, D.D.S., M.S.D., Ph.D.\*

*Department of Orthodontics, College of Dentistry, Kyungpook National University*

*\*Department of Oral biochemistry, College of Dentistry, Kyungpook National University*

To evaluate the effect of a static magnetic field on the bone producing potential of MC3T3-E1 cells, the alkaline phosphatase activity was measured after the cells having been cultured under 76.4mT static magnetic field using a SmCo<sub>5</sub> magnets for 5days, 7days, 11days, 15days and 21days for each cell culture group. Also, the amount of bone nodule stained with Alizarin red S was observed.

The results were as follows

. The alkaline phosphatase activity of the 7, 11, and 15 days group among the experimental groups was decreased as compared with the control groups, and the decrease of alkaline phosphatase activity in the 11 days group was the most evident among them.

. Any stained bone nodules of both groups had not been observed until the 11th day. The stained bone nodules in the control groups were found on the 15th day, but not in the experimental groups. The stained bone nodules were observed in both groups on the 21st day, but the control groups have more bone nodules than the experimental groups.

KOREA. J. ORTHOD. 1998 ; 28 : 155-163

※ **Key words** : MC3T3-E1 cell, static magnetic field, ALP activity, Bone nodule