

# 임플란트에 연결한 영구자석의 자력이 뼈의 세포외 기질 생성에 미치는 영향에 관한 실험실적 연구

경희대학교 치과대학 치과보철학교실

원인재 · 백 진 · 권금록 · 이성복

## I. 서 론

전자기장의 생물학적 영향에 관한 연구는 1957년 Yasuda 등<sup>1)</sup>이 뼈의 Piezoelectric properties에 관하여 연구한 것을 시작으로 전자기장이 뼈에 미치는 연구, 특히 파절된 뼈에 있어서의 치유를 위한 비침습적 방법으로<sup>2,3)</sup> 연구가 진행되었다. Korenstein 등<sup>4)</sup>의 실험에서 전자기장 자극에 의해서 뼈세포가 증식한다는 간접적인 증거가 있었다. Bodamyali 등<sup>5)</sup>은 그들의 실험에서 전자기장 자극이 뼈 형성의 개시와 그에 관여하는 단백질의 합성을 증가시킨다고 보고하였으며, McDonald 등<sup>6)</sup>의 실험에서는 전자기장이 뼈모세포와 섬유모세포의 활성을 증가시킨다고 기술하였다.

전자기장이란 전기장과 자기장의 총칭으로 전기장과 자기장이 서로 연관되어 나타날 때 양쪽을 합쳐서 전자기장이라고 한다. 전기장은 정전하의 주위에, 자기장은 자극 주위에 생기는 것으로 각각 독립된 물리대상이지만, 전하가 운동하여 전기장이 시간적으로 변동하는 곳에서 반드시 자기장이 생기고, 역으로 자기장이 변동하면 전기장이 동반되는 등, 일반적으로 양쪽이 동시에 나타나는 경우가 많으므로 이를 전자기장이라 한다.

치의학에서는 교정학과 치주학 분야에 주로 적용되었으나<sup>7-9)</sup> 골유착성 임플란트의 사용이 보편화되면서 임플란트와 뼈의 유착 기간을 감소시켜 임플란트 시술에 걸리는 기간을 단축시키려는 의도 하에

전자기장을 이용한 임플란트 주위의 뼈 형성 및 뼈 성장에 미치는 영향에 대하여 연구가 진행되었다.<sup>10,11)</sup>

본 실험은 구강 내에 전자기장을 발생하는 전기 장치를 장착한다는 것은 사실상 어려운 일이므로 정적 자기장(static magnetic field)을 형성하는 영구자석을 이용하여 임플란트와 뼈의 유착 기간을 단축시켜 조기에 임플란트가 기능할 수 있도록 하려는 목적으로 행해졌다. 따라서 구강 내 적용할 수 있을 만큼 크기가 작으면서도 적절한 자력을 발생시킬 수 있는 네오디미움(Neodymium) 자석을 이용하여 임플란트와 연결하였으며, 뼈 형성의 기본 단계에서 임플란트 주위 뼈모세포의 분화의 증거인 뼈의 세포외 기질(Bone Extracellular Matrix) 생성에 대한 영구자석의 영향에 대하여 알아보려고 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

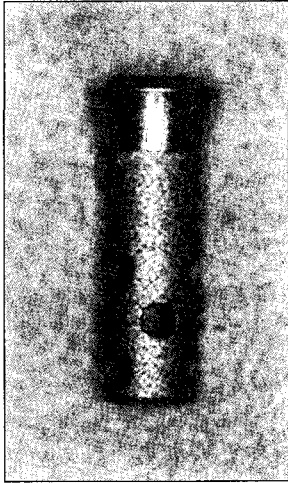
#### 1) 실험세포

본 실험에서는 Mouse의 두개골에서 얻은 뼈모유사세포(osteoblast-like cell)인 MC3T3-E1(E1)세포를 이용하였다.

#### 2) 임플란트

직경 3.5 mm, 길이 10 mm의 hollow cylinder 임플란

트(ITI, Straumann, Switzerland)를 사용하였다 (Fig. 1).



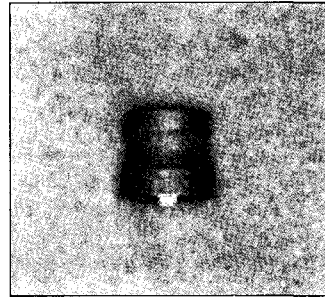
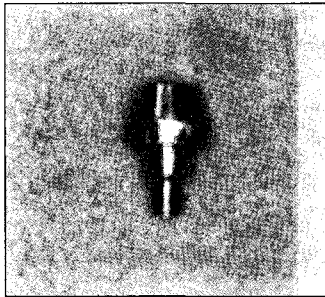
**Fig. 1.** ITI Hollow-cylinder Implant (Straumann, Switzerland).

### 3) 영구자석

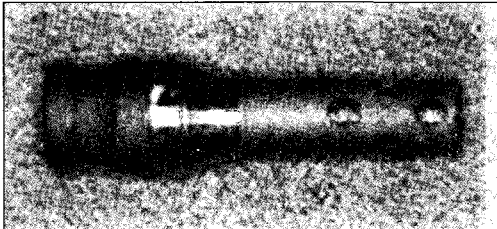
Healing cap 형태와 외관형태로 제작된 네오디뮴 자석(Titanmagnetics Konusinsert, Steco-system-technik, Germany)을 사용하였다(Fig. 2). 실험군은 임플란트에 이 영구자석을 연결하였고 대조군에는 임플란트에 일반 healing cap을 연결하였다 (Fig. 3, 4). 실험에 사용한 영구자석의 자력을 자력 측정기로(Fig. 7) 측정한 결과 자력은 임플란트 neck 부위에서 약 12.5 밀리 테슬라(mT), 거리가 멀어질수록 점차 감소하여 apex 부위에서는 약 0.9 밀리 테슬라로 나타났다.

### 4) 세포 배양판

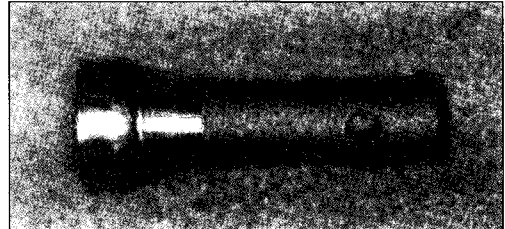
6-well 세포 배양판(Falcon, Somerville, USA)의 뚜껑에 플라스틱 막대를 이용하여 임플란트를 연결하고 고정시켰다(Fig. 5). 이 때, 임플란트의 측면이 세포 배양판의 바닥과 접하도록 위치시켰다(Fig. 6).



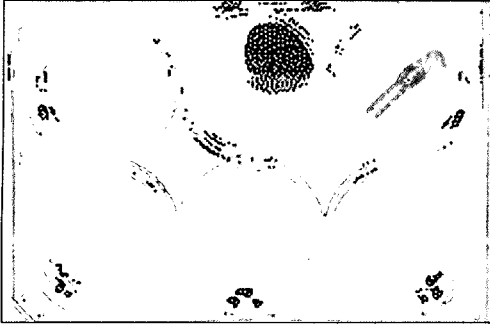
**Fig. 2.** Titanmagnetics Konusinsert(Steco-system-technik, Germany).



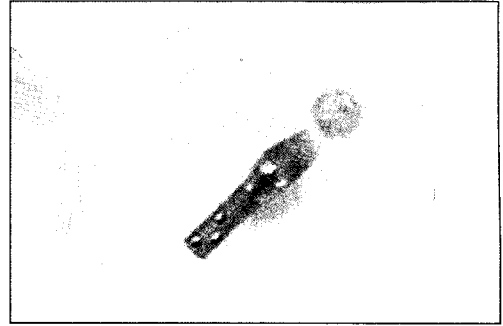
**Fig. 3.** Experimental Group, Implant with magnet.



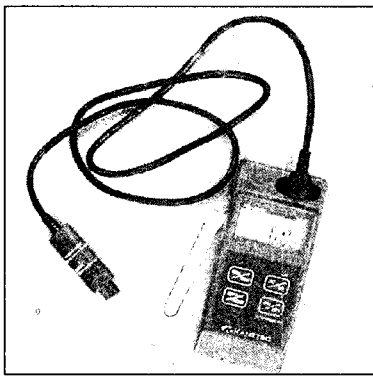
**Fig. 4.** Control Group, Implant with healing cap.



**Fig. 5.** Cell culture plate(Falcon, Somerville, USA).



**Fig. 6.** Axial surface contact of implant to the base of the plate.



**Fig. 7.** Gauss meter(Kanetec Co.,Tokyo, Japan).

#### 5) 자력측정기

영구자석을 연결한 임플란트의 각 부위의 자력을 측정하기 위해 Gauss meter(Kanetec Co., Tokyo, Japan)를 사용하였다(Fig. 7). 자석 연결 없이 임플란트의 자력을 측정해 보았을 경우 임플란트 neck 부위의 자력은 0mT를 나타냈고 자석의 내관을 연결하고 자력을 측정하였을 경우 임플란트 neck 부위에서 자력은 최대 10.0mT를 나타내었으며 자석 내관과 외관을 연결한 후 자력을 측정하였을 때 임플란트 neck 부위에서 자력은 최대 12.5mT를 나타냈다. 이 실험에서는 자석의 내관과 외관이 모두 장착된 상태로 적용하였다.

## 2. 실험방법

### 1) MC3T3-E1세포 배양

E1세포는 10% Fetal Bovine Serum (FBS: Gibco, Calsbad, USA)과, Penicillin(100 unit/ml)-Streptomycin(100  $\mu$ g/ml)(Gibco, Calsbad, USA)이 포함된  $\alpha$ -Minimum Essential Medium( $\alpha$ -MEM: Gibco, Calsbad, USA)을 배양액으로 하여 배양하였다.

$2.5 \times 10^3/ml$ 의 세포 농도로 실험군과 대조군 각 4개씩 8개의 세포 배양판(Falcon, Somerville, USA)에 7 ml씩 분주하였다.

미리 제작해둔 세포 배양판의 뚜껑에 영구자석과 연결된 임플란트와 일반 healing cap을 연결한 임플란트를 각각 하나씩 연결하고 뚜껑을 덮어 배지 내에 임플란트를 위치시켰다(Fig. 6).

### 2) 영구자석 자기장하에서의 세포 배양

세포 배양 3일, 7일, 14일 후에 각각 세포 배양판에서 임플란트와 세포 배양판을 Hanks balanced salt solution(HBSS) 1.5ml에 1회 수세한 후 0.05% trypsin - 0.53mM tetrasodium ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA: Gibco, Calsbad, USA) 2 ml에 4분간 담가 뼈모유사세포를 모았다. 임플란트를 제거한 후 원심분리(1500 rpm, 10분)하고 상층액을 제거하였다. 3일, 7일, 14일 배양된 뼈모유사세포를 각각 세포 침전하여  $-70^{\circ}C$ 에서 보관하였다.

### 3) Protein assay

세포 속에 있는 단백질의 발현량을 측정하기 위해서는 lysis buffer(25 mM Tris-HCl, pH 7.4, 150mM NaCl, 1% Triton X-100)를 이용한 후 초음파를 이용한 세포막 파쇄를 하여 세포막을 제거하였다. 원심분리(12000 g, 15분)를 통해 cell lysate를 준비한 후 대조군과 실험군에서 각각 얻어진 단백질 표준의 농도를 흡광도 595 nm에서 측정하였다.

### 4) Western immunoblotting analysis

Western immunoblotting analysis<sup>12)</sup>란 항원-항체 반응을 이용하여 여러 단백질 혼합물 중에서 원하는 특정 단백질을 찾아내는 방법으로 분석하고자 하는 단백질을 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis)에 걸쳐 크기 별로 분리한 다음 Coomassie brilliant blue에 바로 염색해서 보는 방법과 nitrocellulose 또는 nylon membrane 으로 전이시키는 방법이 있다(Fig. 8, 9). 그 후 원하는 단백질을 fluorescence, radioactivity, enzyme 등을 이용해서 그 band를 볼 수 있다. enzyme을 이용하는 방법은 alkaline phosphatase 나 horseradish peroxidase 등과 chromogenic substrate(BCIP, NBT)를 반응시킨다.

본 실험에서 분리하고자 하는 단백질인 Collagen type I (120kDa-140kDa)과 Osteocalcin(5900Da)

을 이 SDS-polyacrylamide gel을 통과할 수 있도록 acrylamide의 농도를 조절하였다. 그 후 water-saturated butanol을 몇 방울 떨어뜨려 공기 접촉을 차단, 1시간 후에 굳은 것을 확인하고 comb을 꽂은 후 1시간 후에 제거한 다음 증류수로 수세하였다. starting gel 부위는 30-60 V, running gel 부위는 60-120 V로 유지하며 1시간 동안 전기영동을 시행하였다. 전기영동을 시행한 gel과 Whatman paper, 그리고 Nitrocellulose membrane을 transfer buffer에 담근 후 5분간 진동을 시행했다. 3장의 Whatman paper와 Nitrocellulose membrane을 순서대로 깔고 그 위에 gel을 놓은 후 다시 3장의 Whatman paper를 깔고 다음 상판을 덮고 0.8 mA/cm<sup>2</sup>의 전류를 적용시켰다. 1시간 후에 Amino Black 염색을 시행하여 band를 확인하였다.

Collagen type I과 Osteocalcin이 이전된 Nitrocellulose membrane을 5% BSA in TBST (Bovine Serum Albumin in Tris Buffer Saline Tween<sup>20</sup>)에 넣어 2시간 동안 진동을 시행한 후, 다시 TBST로 10분씩 6회에 걸쳐 진동을 주어 수세하였다. Collagen type I의 일차항체 (Cat. No:SC-8784, Santa Cruz Biotechnology, USA)와 Osteocalcin의 일차항체 (Cat. No:SC-18319, Santa Cruz Biotechnology, USA)를 각각 1시간 동안 적용시킨 후 TBST로 10분씩 3회에 걸쳐 진동을 주어 수세하

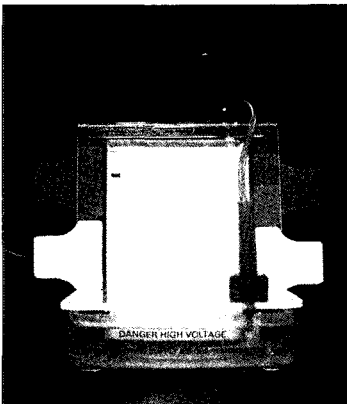


Fig. 8. SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis).

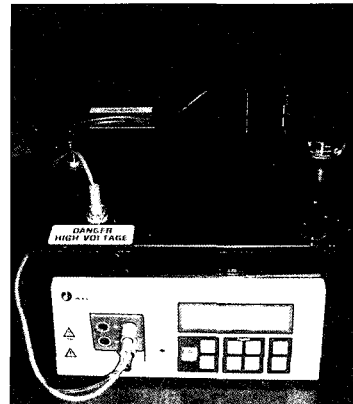


Fig. 9. Transfer to nitrocellulous membrane.

고, 이차항체인 goat polyclonal IgG(Santa Cruz Biotechnology, USA)를 1시간동안 적용시킨 후 TBST로 10분씩 3회에 걸쳐 진동을 주어 수세하였다.

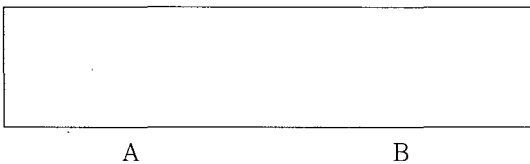
3일, 7일, 14일 배양된 뼈모유사세포에서 생성되는 Collagen type I (120kDa-140kDa)과 Osteocalcin (5900Da)의 band의 발현정도를 각각 관찰하여 비교하였다.

### Ⅲ. 연구성적

#### 1. 3일 동안 배양한 MC3T3- E1세포에서의 Western immunoblotting analysis의 결과

##### 1) Collagen type I의 발현

3일간 MC3T3-E1세포를 배양한 결과 실험군과 대조군에서 발현정도를 비교해 보았을 때 큰 차이가 없었다(Fig. 10).



**Fig. 10.** Cells were cultured for 3days, and compared the amount of Collagen type I .

A: Control group.  
B: Experimental group.

##### 2) Osteocalcin의 발현

3일간 MC3T3-E1세포를 배양한 결과 실험군과 대조군에서 발현정도를 비교해 보았을 때 큰 차이가 없었다(Fig. 11).

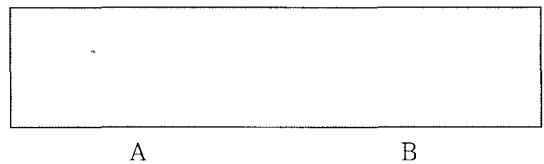
#### 2. 7일 동안 배양한 MC3T3-E1세포에서의 Western immunoblotting analysis의 결과

##### 1) Collagen type I의 발현

7일간 MC3T3-E1세포를 배양한 결과 실험군과 대조군에서 발현정도를 비교해 보았을 때 큰 차이가 없었다(Fig. 12).

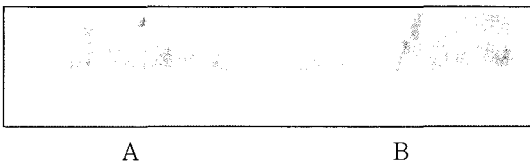
##### 2) Osteocalcin의 발현

7일간 MC3T3-E1세포를 배양한 결과 실험군과 대조군에서 발현정도를 비교해 보았을 때 큰 차이가 없었다(Fig. 13).



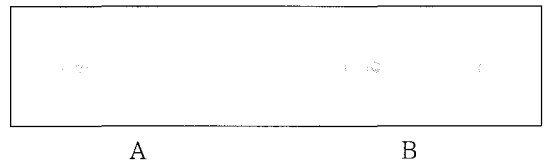
**Fig. 11.** Cells were cultured for 3days, and compared the amount of Osteocalcin.

A: Control group.  
B: Experimental group.



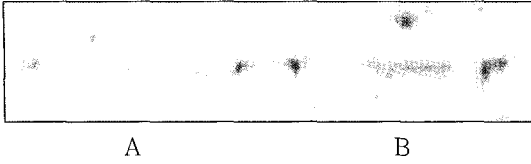
**Fig. 12.** Cells were cultured for 7days, and compared the amount of Collagen type I .

A: Control group.  
B: Experimental group.

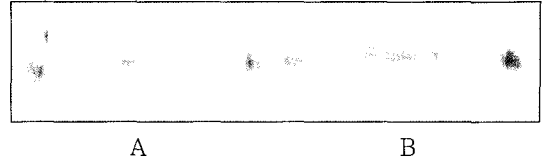


**Fig. 13.** Cells were cultured for 7days, and compared the amount of Osteocalcin.

A: Control group.  
B: Experimental group.



**Fig. 14.** Cells were cultured for 14days, and compared the amount of Collagen type I.  
A: Control group.  
B: Experimental group.



**Fig. 15.** Cells were cultured for 14days, and compared the amount of Osteocalcin.  
A: Control group.  
B: Experimental group.

### 3. 14일 동안 배양한 MC3T3- E1세포에서의 Western immunoblotting analysis의 결과

#### 1) Collagen type I의 발현

14일간 MC3T3-E1세포를 배양한 결과 실험 군과 대조군에서 발현정도를 비교해 보았을 때 대조군 보다 실험군에서 더 진한 band를 보였다(Fig. 14).

#### 2) Osteocalcin의 발현

14일간 MC3T3-E1세포를 배양한 결과 실험군과 대조군에서 발현정도를 비교해 보았을 때 대조군 보다 실험군에서 약간 진한 band를 보였다(Fig. 15).

## IV. 총괄 및 고안

전자기장에 의한 뼈모세포 활성의 증가와 뼈 형성 촉진에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 뼈 형성을 촉진하기 위해 전기를 사용하는 것에 대한 관심은 Yasuda 등<sup>2)</sup>이 전기적 자극으로 뼈 형성을 유도한 1953년부터 크게 증가하였다. Yasuda는 더 나아가 부하가 가해질 때 건조된 뼈에서 전위차가 나타나는 것을 관찰하였다.<sup>1-3)</sup> Yasuda의 연구 이후에도, 많은 연구자들이 뼈의 치유에 있어서 전자기장의 잠재적인 효과에 대하여 연구하여 이를 지적하였다. 외부의 전자기장은 인공적으로 만든 손상부위의 뼈 형성과 골절의 치유,<sup>13-15)</sup> partial limb의 재생<sup>16,17)</sup>을 포함한 다양한 경우에서 유용하게 이용될 수 있음이 나타났다. 외부의 전자기장은 임상적으로 비유합된 골절의 치료에도 사용되어졌다.

Inoue 등<sup>18)</sup>은 전자기장 노출은 뼈세포에 직접적으

로 자극을 주어 뼈 재형성을 촉진시킨다 하였으며 전자기장 자극이후 미분화간엽세포들이 뼈모세포와 뼈세포로 분화하는 것을 관찰하였다. Matsunaga 등<sup>19)</sup>은 전자기장에 의해 알칼리성인산분해효소의 활성이 증가되는 것을 측정함으로 전자기장 노출에 의해서 뼈모세포의 증식과 분화가 증가하는 것을 관찰하여 보고하였다.

1990년대 들어 성장인자에 관한 연구가 활발해지기 시작했는데,<sup>20,21)</sup> Fizmmon 등<sup>22,23)</sup>은 전자기장 자극이후에 세포에서 분비되는 증가된 성장인자와 관련되어서 골세포 증식이 증가하는 것을 보고하였으며, 골의 중요한 요소인 IGF-I은 전자기장 자극 이후에 증가되고, 이는 증가된 성장인자의 분비에의해 확인된다고 하였다. McCarthy 등<sup>24)</sup>은 IGF-I과 IGF-II는 골모세포의 증식과 교원질 합성을 촉진한다고 하였다. 2000년 Hartig 등<sup>25)</sup>은 전자기장이 골모세포의 증식에 영향을 미치고 bone matrix를 구성하는 protein의 양도 증가시킨다 하였다.

한편 전자기장을 적용하는 방법은 전류를 이용한 방법과 자석을 이용한 방법으로 나눌 수 있다. 전류에 의해 형성된 자기장을 이용한 방법은 보편화 되어있고 이미 많은 연구가 진행되어진 반면 자석에 의해 형성되는 자기장을 이용하는 것에 대한 연구는 자석의 크기와 적용한계 때문에 널리 응용되지 못하였다. 자석을 이용한 연구는 1970년대 희토류 자석이 개발되어 인체에 적용 가능한 작은 크기라도 충분한 자성을 얻을 수 있게 된 후 서서히 발달하기 시작했다. 1981년 Esformes 등<sup>26)</sup>은 사마리움-코발트(Sm-Co) 자석에 의한 자기장이 인체에서 세포의 성장속도, 형태, 성장능력에 미치는 유해한 효과는 없

다고 하였으며, Sato 등<sup>27)</sup>도 세포의 DNA 합성이나 성장속도, 형태에 해로운 영향을 미치지 않는다고 하였다. 1998년 Yan 등<sup>28)</sup>은 쥐의 대퇴골에 사마리움-코발트 자석을 매식한 후 매식된 자석 주위에 뼈의 무기질 밀도(bone mineral density, BMD)가 동일한 크기의 비자기화된 사마리움-코발트 금속을 매식한 경우에 비하여 매우 높아지는 것을 관찰하였다. 2001년 Xu 등<sup>29)</sup>도 유사한 결과를 보고하였는데, 특히 동맥을 차단한 경우에도 BMD가 유지되는 것으로 보아 혈액 순환 개선에도 효과가 있는 것으로 나타났다.

임플란트가 치과분야에 사용된 이래로 임플란트 주위 뼈세포의 부착과 뼈 형성을 개선시켜 임플란트의 안정성을 증진시키고 치료기간을 단축하기 위한 많은 연구가 진행되었다. 임플란트 자체의 기계적인 측면의 개선 외에도 임플란트가 식립된 주변 치조골의 뼈 형성을 촉진시킬 수 있는 방법도 생각해 볼 수 있다. 2003년 조 등<sup>30)</sup>과 이 등<sup>31)</sup>의 연구에 따르면 10 가우스 정도의 자기장의 세기에서 뼈모세포의 활성이 가장 증가하였으며 뼈 형성에 관여하는 수용체의 발현 빈도도 높게 나타났다.

본 실험에서는 자기장이 뼈모세포에 미치는 긍정적인 영향에 착안하여 임플란트 시술에 임상적 응용 가능성을 알아보기 위한 실험으로 영구자석이 연결된 임플란트의 주위 뼈모세포의 뼈형성에 대한 자기장의 영향에 대하여 살펴보았다. 따라서 이번 실험에서는 뼈모세포의 뼈 생성시에 나타나는 Bone matrix를 이루는 protein중의 하나인 Collagen type I 과 Osteocalcin을 살펴보았다. 2000년 Hartig 등<sup>25)</sup>의 실험에서는 전자기장의 영향을 받은 뼈모세포의 배양시간에 따라 Bone matrix를 구성하는 protein의 생성에 다른 결과들이 나타났다. 13일 후부터 Bone matrix protein이 전자기장의 영향을 받지 않은 뼈모세포보다 전자기장의 영향을 받은 뼈모세포에서 급격히 많이 생성되었다. 본 실험에서도 유사하게 3일과 7일 배양시에는 크게 차이가 없었으나 14일 배양 후 분석한 결과 영구자석의 자기장하에서 배양한 임플란트 주위 뼈모세포에서 생성된 Bone matrix protein인 Collagen type I 과 Osteocalcin의 생성량이 영구자석이 없는 경우에서 보다 많이 생성됨을 보여 주었다. 이 때 분자량이 큰 Collagen type I

(120-140kDa)에서는 명확한 차이를 보여주었지만 분자량이 작은 Osteocalcin (5900Da)에서는 비교적 명확한 차이를 보여주는 못했다. 따라서 이는 임플란트 식립 후 초기 골생성시 좋은 참고 자료가 될 수 있다. 하지만 그 효과에 대해서는 향후 더 많은 연구와 실험이 필요하며, 이러한 추가적인 연구 후 임상적으로 구강 내 임플란트의 조기 부하 등의 분야에 있어서 응용 가능할 것으로 판단되었다.

## V. 결 론

임플란트와 연결된 영구자석이 임플란트 주위 뼈모세포에 미치는 영향을 알아보기 위하여 healing cap 형태로 제작된 영구자석과 임플란트를 연결하여 실험군으로 하고, 자석과 연결하지 않은 임플란트를 대조군으로 하였다. 그 후에 실험군과 대조군에서 3일, 7일, 14일 동안 세포를 배양하였다. 각 임플란트 주위 뼈모 세포의 뼈생성을 알아보기 위해 Western immunoblotting analysis를 시행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 3일간 뼈모세포 배양시 영구자석과 연결된 임플란트 주위 뼈모세포와 영구자석이 연결되지 않은 임플란트 주위 뼈모세포에서의 bone matrix양은 크게 다르지 않았다.
2. 7일간 뼈모세포 배양시 영구자석과 연결된 임플란트 주위 뼈모세포와 영구자석이 연결되지 않은 임플란트 주위 뼈모세포에서의 bone matrix양은 크게 다르지 않았다.
3. 14일간 뼈모세포 배양시 영구자석과 연결된 임플란트 주위 뼈모세포와 영구자석이 연결되지 않은 임플란트 주위 뼈모세포에서의 bone matrix양을 비교해 볼 때 영구자석과 연결된 임플란트 주위 뼈모세포의 bone matrix양의 증가가 있었다.

이상의 결과로부터 영구자석의 자기장이 임플란트 주위 뼈모세포의 증가에 영향을 미치고 있기 때문에 임플란트 식립 초기의 뼈 형성에 더욱 유리한 영향을 줄 것으로 예상되었다. 따라서 향후 구강내 임플란트나 골이식 분야에 있어서 임상적으로 응용 가능할 것으로 판단되었다.

## 참고문헌

1. Yasuda I, Fukuda E. On the piezoelectric effect of bone. *J Physiol Soc Japan* 1957;12:121-128.
2. Yasuda I, Nagayama H, Kato T, et al. Fundamental problems in the treatment of fracture. *J Kyoto Med Soc* 1953;4:395-406.
3. Yasuda I. Piezoelectricity of living bone. *J Kyoto Pref Univ Med* 1953;53: 325.
4. Korenstein R, Somjen D, Fischer H, Binderman I. Capacitative pulsed electric stimulation of bone cell. Induction of cyclic-AMP and DNA synthesis. *Biochem Biophys Acta* 1984;803:302-307.
5. Bodamyali T, Bhatt B, Hughes FJ, Winrow VR, Kanczler JM, Abbott J, Blake DR, Stevens CR. Pulsed electromagnetic fields simultaneously induce osteogenesis and upregulated transcription of bone morphogenic proteins 2 and 4 in rat osteoblast in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;250:458-461.
6. McDonald F. Effect of static magnetic fields on osteoblasts and fibroblasts in vitro. *Bioelectromagnetics* 1993;14:187-196.
7. Bassett CA, Pawluk RJ, Pilla AA. Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields. *Science* 1974;184:575-577.
8. Jacobs JD, Norton LA. Electrical stimulation of osteogenesis in pathological osseous defects. *J Periodontal* 1976;47:311-319.
9. Kawata T, Hirota K, Sumitani K. A new orthodontic force system of magnetic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987;92:241-248.
10. Brighton CT, Pollack SR. Treatment of recalcitrant nonunion with a capacitively coupled electric field. *J Bone Joint Surg* 1985;67:577-585.
11. Bassett CAL, Mitchell SN, Norton L, Pilla AA. A nonoperative salvage of surgically resistant pseudarthroses and nonunions by pulsing electromagnetic fields. a preliminary report. *Clin Orthop* 1977;1245:128-143.
12. Hossenlopp P, Seurin D, Segovia-Qinson B, Hardouin S, Binoux M. Analysis of serum insulin-like growth factor binding proteins using Western blotting: Use of the method for titration of the binding proteins and competitive binding proteins and competitive binding studies. *Anal Biochem*, 1986;154:138-143.
13. FriedenberG ZG, Robert PG, Didizian NH, Brighton CT. Stimulation of fracture healing by direct current in the rabbit fibula. *J Bone Joint Surg* 1971;53:1400-1408.
14. Cieszynski Y. Studies on the regeneration of ossal tissue. II. Treatment of bone fracture in experimental animals with electric energy. *Arch Immunol Ther Exp* 1963;11:199-217.
15. Bassett CA, Pawluk RJ. Noninvasive method for stimulating osteogenesis. *J Biomed Mater Res* 1975;9:371-374.
16. Stan S, Sansen W, Muline JC. Experimental study on the electrical impedance of bone and the effect of direct current on the healing of fracture. *Clin Orthop* 1976; 120:264-267.
17. Smith SD. Effect of electrode placement on stimulation of adult frog limb regeneration. *Ann NY Acad Sci* 1974;238:500-507.
18. Inoue S, Ohashi S, Kajikawa K et al. The effects of electric stimulation on the differentiation to the bone. *Orthop Res Sci*



- 1980;7:501-507.
19. Matsunaga S, Sakou T, Yoshikuni N, et al. Intramedullary callus induced by weak direct current stimulation: Serial changes in the alkaline phosphatase activity at the site of electricity induced callus formation. *J Japan Bioelect Res Soc* 1988;2:67-71.
  20. Canalis E, McCarthy T, Centrella M. Growth factors and the regulation of bone remodeling. *J Clin Invest* 1988;81:277-281.
  21. Harris H. The human alkaline phosphatase: What we know and what we don't know. *Clin Chim Acta* 1990; 186: 133-150.
  22. Fitzsimmons RJ, Farley JR, Adey WR, Baylink DJ. Frequency dependence of increased cell proliferation, in vitro, in exposures to a low-amplitude, low frequency electro field: evidence for dependence on increase mitogen activity released into culture medium. *J Cell Physiol* 1989; 139: 586-591.
  23. Centrella M, McCarthy T, Canalis E. Cyclic AMP induces insulin-like growth factor I synthesis in osteoblast-enriched cultures. *J Biol Chem* 1989;264:18268-18271.
  24. McCarthy T, Centrella M, Canalis E. Regulatory effects of insulin-like growth factor I and II on bone collagen synthesis in rat calvarial cultures. *Endocrinology*, 1989;124:301-309.
  25. Mareke Hartig, Ulrich Joos, Hans-Peter Wiesmann. Capacitively coupled electric fields accelerate proliferation of osteoblast-like primary cells and increase bone extracellular matrix formation in vitro. *Eur Biophys J* 2000;29:499-506.
  26. Esformes I, Kummer FJ, Livelli TJ. Biological effects of magnetic fields generated with CoSm magnets. *Bull Hosp Jt Orthop Inst* 1981;41:81-87.
  27. Sato K, Yanaguchi H, Miyamoto H, Kinouchi Y. Growth of human cultured cells exposed to a non-homogenous atatic magnetic field generated by Sm-Co magnets. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1136:231-238.
  28. Yan QC, Tomita N, Ikada Y. Effect of static magnetic field on bone formation of rat femur. *Med Eng Phys* 1998;20:397-402.
  29. Xu S, Tomita N, Ohata R, Yan Q. Static magnetic field effects on bone formation of rats with an ischemic bone model. *Biomed Mater Eng* 2001;11:257-263.
  30. Cho YW, Lee SB, Chio BB. The effect of magnetism(neodymium magnet) on activity of osteoblast. *J Korean Academy of Stomatognathic Function and Occlusion* 2003;19:185-194.
  31. Lee SM, Lee SB, Chio BB. Effect of magnetism(neodymium magnet) on growth factor receptors of osteoblast. *J Korean Academy of Stomatognathic Function and Occlusion* 2003;19:87-96.

---

**Reprint request to:**

**Sung-Bok Lee**, D.M.D., M.S.D., Ph.D.

Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Kyung Hee University  
#1, Hoigi-Dong, Dongdaemun-Gu, Seoul, 130-701, Korea  
lsb@khu.ac.kr

ABSTRACT

## THE EFFECT OF PERMANENT MAGNET CONNECTING WITH DENTAL IMPLANT ON BONE EXTRACELLULAR MATRIX FORMATION

In-Jae Won, D.M.D., Jin Baik, D.M.D., M.S.D., Ph.D.,  
Kung-Rock Kwon, D.M.D., M.S.D., Ph.D., Sung-Bok Lee, D.M.D., M.S.D., Ph.D.,

*Department of Prosthodontics, Division of Dentistry, Graduate School, Kyung Hee University*

**Statement of problem:** The use of permanent magnetics is increasing in implant dentistry.

**Purpose:** This study is to know the effect of permanent magnetics on bone matrix formation of osteoblasts.

**Materials and methods:** The konus abutment-shaped permanent magnetics were connected to the implant fixture, and placed on the culture plate. The osteoblast-like cell : Mc3T3-E1 were used for cell culture. As the control group, the implants were connected to titanium healing caps, and cultured in the same conditions of experimental group. After 3, 7, 14 days, cells were cultured, and we measured and compared the amount of collagen type I, osteocalcin, which is bone matrix protein by Western immunoblotting analysis.

**Results:** As a result of Western immunoblotting analysis for estimating the amount of bone extracellular matrix, there was no difference between osteoblast of the experimental group and the control group during 3 and 7day-osteoblast culturing. However when cells were cultured for 14days, the amount of bone extracellular matrix was increased, on the experimental group.

**Conclusion:** From these results, magnetic field of permanent magnetics might have effect on bone formation of osteoblast, especially at initial stage of implant placement. Therefore, their clinical application for implant or bone graft could be possible.

---

**Key words :** Bone extracellular matrix, Permanent magnet, Collagen type I , Osteocalcin