

Nd-Fe-B 자석의 정자기장이 MC3T3-E1 세포의 alkaline phosphatase 활성도에 미치는 영향

김 숙 희¹⁾ · 권 오 원²⁾ · 류 현 모³⁾

Nd-Fe-B 자석의 정자기장 (Static Magnetic Field)이 MC3T3-E1 세포의 alkaline phosphatase (ALP) 활성도에 미치는 영향을 알아보기 위하여, MC3T3-E1 세포를 12 well 세포배양접시의 1열과 3열에 접종하고 1열과 3열의 첫째 칸 하방에 Nd-Fe-B 자석을 가하여 7일, 13일, 19일, 25일간 배양한 후 세포의 ALP 활성도를 측정하였으며, 100 mm 세포배양접시의 한 쪽 가장자리 하방에 Nd-Fe-B 자석을 가하여 7일, 13일, 19일, 25일간 배양한 후 ALP 염색을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 정자기장을 가한 13, 19, 25일에 각각 100 mT에서는 대조군에 비해 ALP 활성도가 감소된 반면 4.6 mT와 0.5 mT에서는 대조군에 비해 ALP 활성도가 증가되었다 ($P < 0.01$).
2. ALP 염색에서 전체적으로는 19일까지 ALP가 증가되었다가 25일에 다소 감소되는 양상을 나타내었으며, 각 세포배양접시에서는 7일에는 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나 13, 19, 25일에는 자석이 놓인 부위 (100 mT) 가 그 반대편 (0.5 mT)에 비해 ALP가 감소되었음을 육안으로나 도립위상차현미경으로 관찰할 수 있었다.

이상의 결과 0.5 mT와 4.6 mT의 낮은 자기장에서는 ALP 활성도가 증가되었으며 100 mT의 높은 자기장에서는 ALP 활성도가 감소되어, Nd-Fe-B 자석의 정자기장이 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성도에 영향을 미쳐 골조직의 형성 및 개조에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다.

주요단어: Nd-Fe-B 자석, 정자기장, MC3T3-E1 세포, ALP 활성도

서 론

치열교정은 치아에 가하여진 여러 형태의 교정력에 의하여 치아를 둘러싼 주위조직이 세포활동을 매개로 적응해가는 일련의 골개조 과정이다. 즉, 교정력이 치아에 가하여지면, 치주인대는 압박되거나 견인되며, 압박측의 치조골에서는 파골세포가 나타나 골흡수를, 견인측의 치조골에서는 조골세포가 나타나 골형성을 야기하여 치아가 이동하게 된다. 따라서, 교

정적 치아이동에 관련된 골대사 연구에서는 조골세포와 파골세포에 대한 이해가 필수적이라고 본다.

바람직한 교정력은 환자에게 불편감을 주지않고 치조골 상실이나 치근 흡수와 같은 조직의 손상없이 가장 빨리 치아를 이동시키는 힘이다. 그런데, 전통적으로 사용되어온 교정장치인 와이어나 스프링 및 고무 등에 의한 교정력은 피할 수 없는 동통과 불편감을 수반하였고, 그 힘이 시간과 이동 거리에 따라 약화되는 단점이 있으며, 또한 장기간의 치료시 발생할 수 있는 치근의 흡수나 치조골의 상실, 환자의 협조도 결여 등의 문제점이 있다. 따라서, 최적의 교정력을 얻기 위하여 그동안 많은 방법들이 시도되어 왔으며 최근에는 자석 사용이 도입되고 있다.

¹⁾ 경북대학교 치과대학 교정학교실,

²⁾ 경북대학교 치과대학 교정학교실, 교수

³⁾ 경북대학교 치과대학 구강생화학교실, 부교수

1953년 Behrman과 Egan¹⁾이 보철물의 유지를 위하여 치과영역에 영구자석을 도입한 이래, 교정영역에서는 1978년 Blechman과 Smiley²⁾가 처음으로 고양이 치아이동에 Al-Ni-Co 자석을 사용하였다. 그러나 이들 초기의 자석은 필요한 자력을 얻기 위하여서는 너무 큰 부피의 자석이 요구되어 사용이 제한되었다.

1970년 Becker³⁾는 기존의 자석에 비해 작은 크기라도 더욱 큰 힘을 얻을 수 있는 희토류 천이금속계의 Sm-Co 자석에 대해 최초로 보고하였고, Kawata 등⁴⁾은 이를 교정 장치에 응용하여 임상에 활용하였다.

1984년에는 Robinson⁵⁾에 의해 다른 종류의 희토류 자석인 Nd-Fe-B 자석이 소개되어 영구자석의 임상 적용이 더욱 활발히 이루어질 수 있게 되었다. 이에 따라 공극폐쇄 및 골격성 개방교합에서 구치부의 합입, 좁은 상악궁의 횡적확장, 매복치의 견인 등에 영구자석의 사용이 보고된 바 있다.⁶⁻¹²⁾

이와 같이 영구자석의 사용으로 인한 임상적인 장점 및 적절한 교정치료가 보고되고 있으나, 정자기장의 생물학적인 영향에 대해서는 아직 많은 논란이 있다. Blechman과 Smiley²⁾는 자기장에 전신이 노출시 생물학적으로 안전하다고 보고하였고, Tsutsui 등¹³⁾과 Sandler 등¹⁴⁾은 자기장은 세포의 증식에 영향을 주지 않으며 세포독성도 관찰되지 않았다고 보고하였다. Bruce 등¹⁵⁾은 자기장이 토끼의 요골 골절 부위에서 조직의 성숙을 촉진하여 가골의 강도를 증가시켰다고 하였으며, Jones와 Ryaby¹⁶⁾는 자기장이 조골세포의 ALP 합성량을 두배 정도 증가시켰다고 보고한 반면, Linder-Aronson과 Lindskog,¹⁷⁾ Camilleri와 McDonald¹⁸⁾는 정자기장이 세포분열을 억제한다고 보고하였으며, Gorczynska와 Wegrzynowicz¹⁹⁾는 정자기장에 의해 ALP 활성도가 억제된다고 보고하였다.

이렇듯이, 아직 생물학적인 면에서 자기장의 효과에 대해서는 서로 다른 의견이 있고 부정적인 견해도 있으므로 많은 연구가 필요하다고 생각되며, 특히 교정학 영역에서는 조골세포에 자기장이 미치는 영향에 대한 연구가 필요하다.

이에 본 연구는 현재 교정영역에 사용되고 있는 Nd-Fe-B 자석을 이용하여 정자기장을 MC3T3-E1 세포에 가할 때, 조골세포 분화의 지표이며 골대사의 척도인 ALP 활성도에 어떠한 영향을 미치는지 비색정량과 조직화학적 염색을 통하여 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

MC3T3-E1 세포, α -minimal essential medium (α -MEM, Gibco사, 미국), fetal bovine serum (FBS, Gibco사, 미국), β -glycerophosphate(β -GP), dexamethasone, trypsin, bovine serum albumin (BSA), sodium paranitrophenyl 1-2 phosphate (PNPP), paranitrophenol(PNP), nonidet P-40 (NP-40), naphthol As-Mx phosphate (이상 Sigma사, 미국), BCA protein kit (Pierce사, 미국), 12 well 세포배양접시 (Corning사, 미국), 100 mm 세포배양접시(Falcon사, 영국), Nd-Fe-B 자석 (태평양 금속(주), 한국) 을 사용하였다. 기타 시약들은 시판되는 일급 시약들을 구입하여 사용하였다.

2. 방법

1. 세포의 배양

쥐의 신생 두개골에서 유래되어 조골세포와 비슷한 양상을 갖는 세포주인 MC3T3-E1 세포를 100 mm 세포배양접시에 10% FBS, 100 U/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin, 5 μ g/ml fungizone을 포함하는 α -MEM 10 ml로 37 $^{\circ}$ C, 95% 습도, 5% CO₂ 공기 혼합 배양기 (Sanyo사, 일본)에서 배양하였다.

2. 정자기장의 형성 및 실험방법

본 실험에 사용한 자석은 두께 2 mm, 직경 19 mm의 Nd-Fe-B 자석 (태평양 금속(주), 한국)이며, 세포배양접시에 가해지는 정자기장의 세기는 tesla-meter (KOSHAVA 3, Wuntronic사, 독일) 를 사용하여 측정하였다.

1) 비색정량을 위한 실험방법

8개의 12 well 세포배양접시의 1열과 3열에 세포를 well당 100,000개로 접종한 후 세포 부착을 위하여 24 시간 배양기에 두었다가, 각 배양접시의 1열과 3열의 첫째 칸 하방에 Nd-Fe-B 자석을 각각 1개씩 가하여 배양하였다. 이때 각 well의 정자기장의 세기는 Fig. 1과 같이 첫째 칸이 100 mT, 둘째 칸이 4.6 mT, 셋째 칸이 0.5 mT, 넷째 칸이 0.0 mT였으며, 첫째, 둘째, 셋째 칸을 실험군으로 넷째 칸을 대조군으로 사용하였다. 배양액에는 10 mM β -GP와 10⁻⁸M dexamethasone

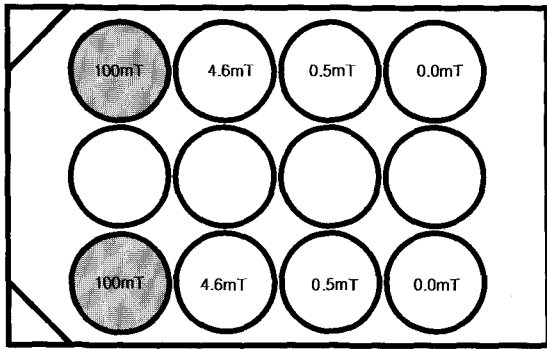


Fig. 1. 12 well culture plate with application of different static magnetic fields. For the experiment, 10^5 cells/well of first and third low of 12 well culture plates were cultured with application of different static magnetic fields(100mT, 4.6mT, 0.5mT, 0.0mT). Nd-Fe-B magnets were positioned under the wells of black area.

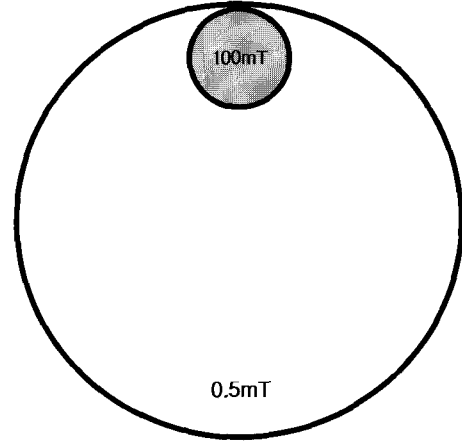


Fig. 2. 100mm culture plate with application of different static magnetic fields. Nd-Fe-B magnet was positioned under the black area.

을 첨가하였으며, 3일 간격으로 배양액을 교환하였다. 조건을 준 7일, 13일, 19일, 25일 후 각각 2개씩의 배양 접시의 배양을 중지하여 ALP 활성도를 측정하였다.

2) 조직화학적 염색을 위한 실험방법

4개의 100 mm 세포배양접시에 500,000개씩의 세포를 접종한 후 세포 부착을 위하여 24시간 배양기에 두었다가, 각 배양접시의 한 쪽 가장자리 하방에 Nd-Fe-B 자석을 각각 1개씩 가하여 배양하였다. 이때 각 배양접시의 정자기장의 세기는 Fig. 2와 같이 자석이 놓인 부위는 100 mT였고 반대편은 0.5 mT였다. 배양액에는 10 mM β -GP와 10^{-8} M dexamethasone을 첨가하였으며, 3일 간격으로 배양액을 교환하였다. 조건을 준 7일, 13일, 19일, 25일 후 각각 1개씩의 배양접시의 배양을 중지하여 ALP 염색을 시행하였다.

3. ALP 활성도의 측정

1) 비색정량법을 이용한 ALP 활성도의 측정

조건을 준 세포배양접시의 배양액을 제거한 후, 찬 PBS로 3번 씻은 후 측정할 때까지 -20°C 에 냉동보관하였다. 얼음위에서 표준용액으로 PNP를 0 nmol에서 60 nmol까지 되도록 하여 각각 300 μ l씩 준비하고, 냉동보관한 세포배양접시에 0.02% NP-40을 1 ml씩 넣어 30초간 초음파 마쇄기로 마쇄한 다음 14000 rpm

에서 원심분리하여 상층액 중 100 μ l씩 취하여 0.02% NP-40을 200 μ l씩 넣어 각각 300 μ l가 되게 준비하였다. 준비된 표준용액과 상층액에 500 μ l씩의 1M Tris-Cl pH 9와 100 μ l씩의 5 mM MgCl_2 를 넣고, 기질인 5 mM PNPP를 얼음위에서 준비하여 100 μ l씩 첨가해 37°C 에서 30분간 반응시킨 뒤, 1N NaOH를 250 μ l씩 넣어 반응을 중단시켰다. 이것을 410 nm에서 분광광도계 (Gilford사, 미국) 로 흡광도를 측정하였다. 또한 단백질양 측정은 표준용액으로 BSA를 0.0 mg/ml에서 1.0mg/ml까지 되도록 하여 각각 100 μ l씩 준비하고 남은 상층액중 100 μ l씩 취하여, 표준용액과 상층액에 working reagent (BCA protein assay kit)를 각각 1ml씩 첨가해, 60°C 에서 30분간 반응시킨 뒤 얼음위에서 반응을 중단시켰다. 이것을 562 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. ALP 활성도는 nmole/ min/mg protein단위로 나타내었다.

2) 조직화학적 염색법을 이용한 ALP 활성도의 측정

Naphthol As-Mx phosphate법을 이용하여 다음과 같이 측정하였다.²⁰⁾

조건을 준 세포배양접시의 배양액을 제거하고 찬 PBS로 3번 씻은 후, 10% buffered formalin으로 1시간 30분동안 고정시켰다. formalin을 제거하고 찬 PBS로 씻은 후, PBS를 담고 parafilm을 덮어 측정할 때까지 4°C 에서 냉장보관하였다. 0.5 mg/ml naphthol As-Mx phosphate 용액으로 30분간 염색한 후, 증류

Table 1. Effect of different static magnetic fields on alkaline phosphatase activity in MC3T3-E1 cell(n=4)
(Unit : nmol/min/mg protein)

Day	100mT	4.6mT	0.5mT	0.0mT
7	5.8(0.19)*	4.5(0.22)	5.4(0.27)*	4.7(0.14)
13	8.8(0.25)*	11.7(0.62)*	10.2(0.41)*	9.3(0.04)
19	9.3(0.21)*	12.4(0.65)*	11.1(0.21)*	10.2(0.28)
25	6.5(0.23)*	10.5(0.62)*	9.0(0.59)*	7.3(0.48)

* : Significantly different from control value(P<0.01)
100mT, 4.6mT, 0.5mT : Static magnetic group, 0.0mT : Control group
The values are presented as the mean(S.D.) of alkaline phosphatase activity.

수와 PBS로 세척하여, 붉게 염색된 정도를 육안과 도립위상차현미경 (×100) 으로 관찰하였다.

4. 통계처리

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

실험 결과

1. 비색정량법을 이용한 ALP 활성도의 측정

정자기장을 가하지 않은 대조군에서의 정상적인 ALP 활성도의 변화는 Fig. 3과 같이 19일째까지 증가한 후 25일째는 다소 감소되는 양상을 나타내었다. 각 군의 ALP 활성도의 평균 및 표준편차는 Table 1와 Fig. 4에 나타내었다. 13, 19, 25일에는 100 mT에서는 대조군에 비해 ALP 활성도가 감소되었으며 4.6 mT와 0.5 mT에서는 대조군에 비해 ALP 활성도가 증가되었으나(P<0.01), 7일에는 이러한 양상을 나타내지 않았다.

2. 조직화학적 염색법을 이용한 ALP 활성도의 측정

각 군의 ALP 염색법에 의한 염색 결과는 Fig. 5에서 Fig. 6까지에 나타내었다. Fig. 5에서는 왼쪽상단부터 시계방향으로 각각 7일, 13일, 19일, 25일의 세포 배양접시이며, 각 배양접시의 상단 표시부분이 자석이 놓였던 부위이다. 육안으로 관찰한 결과 Fig. 5와 같이 전체적으로는 ALP가 19일까지 증가되고 25일

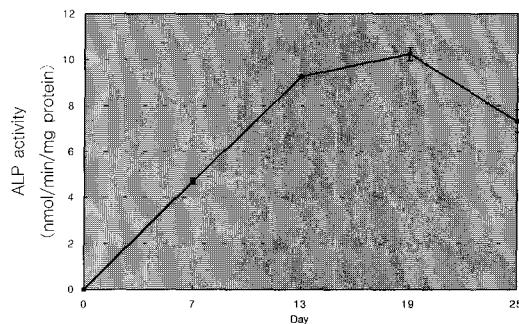


Fig. 3. Normal change of alkaline phosphatase activity during the differentiation of MC3T3-E1 cell(n=4).

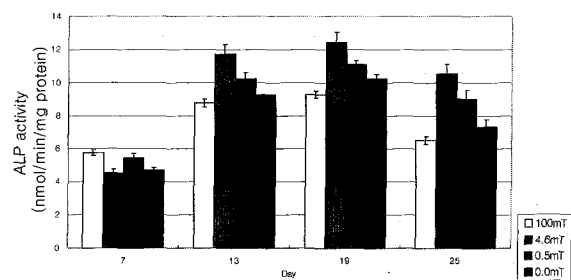


Fig. 4. Effect of different static magnetic fields on alkaline phosphatase activity in MC3T3-E1 cell(n=4).

에는 다소 감소되었으며, 각 배양접시에서는 7일을 제외한 13, 19, 25일에 자석이 놓였던 부위가 그 반대편에 비해 ALP가 감소되는 양상을 나타내었다. 또한

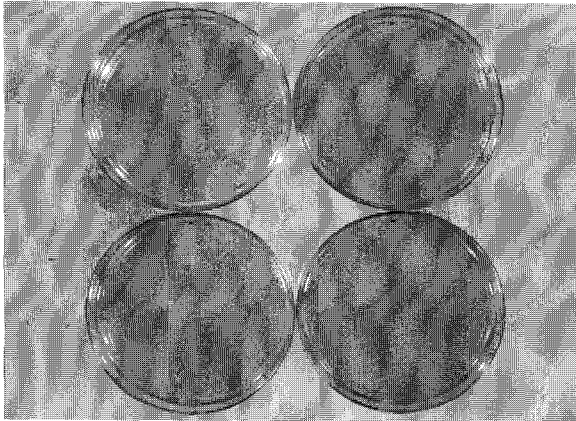


Fig. 5. Photograph of ALP staining of MC3T3-E1 cells in 100mm culture plates with application of different static magnetic fields (0.5mT - 100mT) each time point(7, 13, 19, 25 days).

도립위상차현미경으로 100배 확대하여 관찰한 결과에서도 Fig. 6에서 같이 7일을 제외한 13, 19, 25일에 자석이 놓였던 부위가 그 반대편에 비해 ALP가 감소된 양상을 나타내었다.

고 찰

자석을 이용한 교정적인 치아이동은 고무줄, 스프링, 철사 등을 이용하는 전통적인 교정치료에 비하여 동통이나 불편감이 감소되고 급속한 치아이동시 치아 동요도가 감소되며 치아이동이 빨라 치료기간이 감소되는 등의 많은 임상적 장점을 가진다고 보고되고 있다. 그러나 이러한 임상적인 장점이 정자기장의 어떤 생물학적 효과에 의해 나타나는 것인지는 아직 밝혀지지 않고 있으며, 또한 정자기장의 생물학적인 영향에 대해서도 아직 많은 논란이 있다. 이에 본 연구는 현재 교정영역에서 사용되고 있는 Nd-Fe-B 자석을 이용하여 정자기장을 MC3T3-E1 세포에 가할 때, ALP 활성도에 어떠한 영향을 미치는지 비색정량과 조직화학적 염색을 통하여 알아보고자 하였다.

MC3T3-E1 세포는 Kodama 등²¹⁾이 쥐의 신생 두개골에서 채취한 세포주로서, Choi 등²²⁾의 연구에 의하면 in vitro에서 collagen을 합성해내고 조골세포 형태로 분화하여 석회화 물질을 형성하는 능력이 있어서 골세포의 분화 연구에 유용하게 사용되고 있는 조골세포주다. 이 세포의 조골세포 표식으로는 ALP

활성도를 이용하는데, ALP는 골동중효소로서 정상 골격의 석회화에 중요한 역할을 하며, 조골세포 표현형의 지표로 사용되어 골형성과 골대사의 척도로 알려져 있다.

본 실험에서 자기장을 가하지 않은 대조군에서의 정상적인 ALP 활성도의 변화는 김²³⁾, Choi 등²²⁾의 연구에서 10-11일경에 최고치를 나타낸 후 감소되는 것과는 달리 19일까지 증가하였다가 25일에 다소 감소하는 경향을 나타내었으며, ALP 활성도의 수치도 김²³⁾의 3.373 nmol/min/mg protein과 Choi 등²²⁾의 5.8 nmol/min/mg protein이 최고치인 반면 본 실험에서는 12.4 nmol/min/mg protein의 높은 수치를 나타내었다. 이러한 차이는 배양액에 dexamethasone의 첨가로 인해 조골세포의 분화가 촉진되어 나타난 결과로 생각된다.

또한 본 실험에서는 자석을 12 well 세포배양접시의 첫째 칸에만 두어 각 칸에 가해지는 정자기장이 100 mT, 4.6 mT, 0.5 mT, 0.0 mT로 다르게 하였다. 여러 문헌고찰을 통하여 볼 때, 연구에 따라 정자기장이 생물학적 활성을 증가시킨다는 주장과 오히려 억제시킨다는 주장, 아무런 영향이 없다는 주장이 엇갈리는데, Blechman²⁴⁾은 이러한 연구결과의 차이는 정자기장의 세기의 차이에 의한 것이라 하였다. 그는 자기장의 세기를 감소시키는 것이 자석의 생물학적 효과를 증대시킬 수 있다고 하면서, 정자기장이 세포분열을 억제한다는 결과를 낸 Camilleri와 McDonald¹⁸⁾의 연구에서 사용된 100 mT의 정자기장은 과도하다고 한 반면, ALP 활성도가 2배 증가된 Jones와 Ryaby¹⁶⁾의 연구에서 사용된 30 mT와 2.4 mT 정도의 낮은 정자기장이 더 효과적이라고 하였다. Blechman²⁴⁾의 이러한 주장외에도 다른 연구결과를 보면, 450 mT의 정자기장을 사용한 McDonald²⁵⁾의 연구에서 섬유아세포의 세포분열능과 합성능이 증가된 것과 8 mT를 사용한 Gorczynska와 Wegrzynowicz¹⁹⁾의 연구에서 ALP 활성도가 감소된 것외에는, 500 mT를 사용한 Malinin²⁶⁾의 연구에서 세포성장 억제, 150 mT를 사용한 Gorczynska와 Wegrzynowicz¹⁹⁾의 연구에서 ALP 활성도 감소, 80-120 mT를 사용한 Linder-Aronson 등²⁷⁾의 연구에서 상피두께 감소, 107-230 mT를 사용한 Linder-Aronson과 Lindskog²⁸⁾의 연구에서 세포부착과 성장의 억제 등 100 mT 이상의 높은 자기장을 사용한 경우 생물학적 활성을 억제하는 영향을 나타낸 반면, 22-26 mT를 사용한 Bruce¹⁵⁾의 연구에서 조직의성숙을 촉진하여

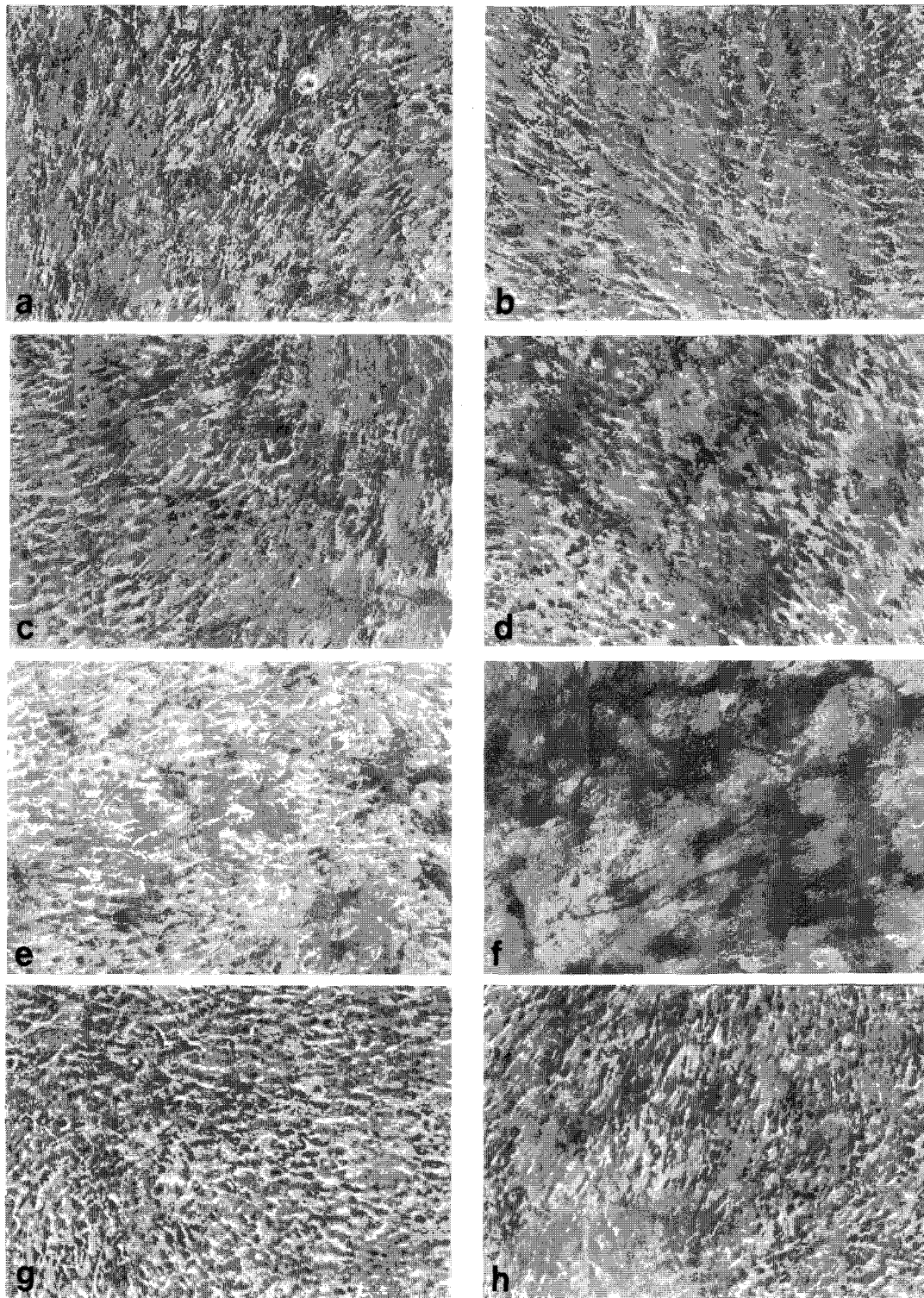


Fig. 6. Phase contrast micrographs($\times 100$) of ALP staining of MC3T3-E1 cells exposed to different static magnetic fields(a, c, e, g : 100mT ; b, d, f, h : 0.5mT) each time point(a, b : 7 days ; c, d : 13 days ; e, f : 19 days ; g, h : 25 days).

가골 강도 증가, 0.5 mT를 사용한 Darendeliler²⁹⁾의 연구에서 치아이동 속도와 양의 증가, 골침착과 기질 양의 증가 등 30 mT 이하의 낮은 자기장을 사용한 경우 생물학적 활성을 증가시키는 영향을 나타내었다. 이러한 문헌고찰 결과 본 실험에서는 과연 정자기장의 세기가 생물학적 효과에 영향을 미치는지 알아보기 위해, 100 mT의 높은 자기장과 4.6 mT, 0.5 mT의 낮은 자기장을 가하여 그 차이를 비교하여 보았다. 그 결과 본 실험에서는 Blechman²⁴⁾의 주장과 같이 100 mT의 높은 자기장에서는 ALP 활성도가 감소되어 생물학적 활성을 억제하는 영향을 나타내었고 4.6 mT와 0.5 mT의 낮은 자기장에서는 ALP 활성도가 증가되어 생물학적 활성을 증가시키는 영향을 나타내었다.

이러한 정자기장의 세기에 의한 생물학적 영향의 차이외에도 McDonald²⁵⁾는 세포 종류에 따라 자기장이 서로 다른 영향을 미친다고 하였다. 그는 조골세포와 섬유아세포에 대해 각각 450 mT의 자기장을 10일간 가해본 결과 조골세포에서는 아무런 영향을 미치지 않았으나 섬유아세포에서는 세포분열능과 합성능이 증가되었음을 보고하며, 정자기장이 세포에 따라 다른 영향을 미친다고 주장하였다. 이러한 연구결과는 장³⁰⁾의 섬유아세포 실험에서 정자기장에 의해 ALP 활성도가 증가한 것과는 일치하지만, Linder-Aronson과 Lindskog²⁸⁾의 섬유아세포 실험에서 정자기장에 의해 세포부착과 성장이 억제된 것과는 상반된 결과를 보인다. 또한 McDonald²⁵⁾의 연구에서 정자기장이 조골세포에 아무런 영향을 미치지 않은 것은 Sandler 등¹⁴⁾이나 Papadopoulos 등³¹⁾의 연구결과와는 일치하지만, 본 실험이나 Jones와 Ryaby,¹⁶⁾ 김²³⁾의 연구에서 정자기장이 조골세포의 ALP 활성도를 변화시킨 것과는 차이가 있다. 이러한 차이들은 가해진 정자기장의 세기나 실험한 기간, 그외 여러 가지 실험 조건에 의해 차이가 날 수 있다고 생각되며 동일한 조건에서 세포에 따른 정자기장의 효과의 차이에 대해 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

또한 Jones와 Ryaby¹⁶⁾는 그들의 연구에서 2.4 mT와 30 mT의 정자기장에 의해 ALP 활성도는 증가된 반면 N-acetyl-glucosaminidase의 활성도는 감소됨을 보고하였고, Gorczyńska와 Wegrzynowicz¹⁹⁾는 8 mT와 150 mT의 정자기장에서 GPT, GOT, LDH 등의 효소 활성도는 증가된 반면 cholinesterase와 ALP의 활성도는 감소되었음을 보고하였으며, Itegin 등³²⁾은 20 mT의 정자기장에서 Na-K⁺ ATPase와 Ca²⁺

ATPase의 활성도는 증가된 반면 Mg²⁺ ATPase의 활성도는 감소되었음을 보고하여, 정자기장이 효소체계에 따라서도 서로 다른 영향을 미친다고 주장하였다.

한편, 자기장이 세포에 영향을 미치는 기전에 대해서는 몇가지 가설이 제기되고 있다. Camilleri와 McDonald¹⁸⁾는 이론적으로 효소체계는 자기장에 의해 영향을 받는 free radical intermediate stage를 포함하고 있는데 자기장은 이러한 이온 반응에 “휘젓는” 효과를 가지며 이러한 효과로 몇몇 반응은 속도가 빨라진다고 설명하고 있다. 그리고 자기장이 차이가 나면 자기장 주위의 산소분자가 재분포되어 마치고 농도 산소하에서 조직에 독성이 나타나듯이 정자기장이 성장과 발생에 영향을 미친다고 하였다. Blechman과 Steger³³⁾는 자기장이 세포에 영향을 미치는 기전을 세포막을 통한 Ca 이온 확산 속도의 증가라고 하였다. 기본적으로 세포막은 자기장의 초기 신호전달 장소이며 이러한 신호가 세포막을 통해 증폭되어지고 효소의 인산화를 가속화시키고 이것이 단백질을 활성화하여 어떠한 세포의 기능에 영향을 미친다고 설명하고 있다. 본 실험만으로는 어떠한 기전에 의해 자기장이 세포에 영향을 미치는지 정확히 알 수 없지만, 본 실험 결과 자기장이 조골세포의 ALP 활성도에 영향을 미치는 것은 분명하게 나타났으며, 따라서 자기장이 효소체계에 영향을 미친다는 가설을 뒷받침할 수 있는 중요한 결과로 생각된다.

본 실험에서 100 mT의 높은 자기장에서 ALP 활성도가 감소되고 4.6 mT와 0.5 mT의 낮은 자기장에서 ALP 활성도가 증가된 것으로 보아, 낮은 정자기장을 교정적인 치아이동에 사용하면 정자기장 자체의 조골세포 분화를 촉진하는 효과에 의해 골형성이 촉진되며 이것은 자석을 사용할 때 치아이동이 빨라짐에도 불구하고 치아동요도가 감소되는 현상을 설명할 수 있을 것이라 생각된다. 반면 높은 정자기장을 치아이동에 사용하면 정자기장 자체의 조골세포 분화 억제 효과에 의한 부작용이 나타날 수 있으므로 좀 더 주의가 필요하다고 생각된다.

이상의 결과 Nd-Fe-B 자석의 정자기장이 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성도에 영향을 미쳐 골조직의 형성 및 개조에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 자기장이 각기 다른 세포와 효소체계에 어떤 기전으로 어떤 영향을 미쳐 치아이동 및 인체에 영향을 나타내는지에 대해 정확히 규명하기 위해서는 향후 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

Nd-Fe-B 자석의 정자기장이 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성도에 미치는 영향을 알아보기 위하여, MC3T3-E1 세포를 12 well 세포배양접시의 1열과 3열에 접종하고 1열과 3열의 첫째 칸 하방에 Nd-Fe-B 자석을 가하여 7일, 13일, 19일, 25일간 배양한 후 세포의 ALP 활성도를 측정하였으며, 100 mm 세포배양 접시의 한 쪽 가장자리 하방에 Nd-Fe-B 자석을 가하여 7일, 13일, 19일, 25일간 배양한 후 ALP 염색을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 정자기장을 가한 13, 19, 25일에 각각 100 mT에서는 대조군에 비해 ALP 활성도가 감소된 반면 4.6 mT와 0.5 mT에서는 대조군에 비해 ALP 활성도가 증가되었다($P < 0.01$).
2. ALP 염색에서 전체적으로는 19일까지 ALP가 증가되었다가 25일에 다소 감소되는 양상을 나타내었으며, 각 세포배양접시에서는 7일에는 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나 13, 19, 25일에는 자석이 놓인 부위(100 mT)가 그 반대편(0.5 mT)에 비해 ALP가 감소되었음을 육안으로나 도립위상차현미경으로 관찰할 수 있었다.

이상의 결과 0.5 mT와 4.6 mT의 낮은 자기장에서 ALP 활성도가 증가되었으며 100 mT의 높은 자기장에서는 ALP 활성도가 감소되어, Nd-Fe-B 자석의 정자기장이 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성도에 영향을 미쳐 골조직의 형성 및 개조에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Behrman SJ, Egan G. Implantation of magnets in the jaw to aid denture retention. NY State D J 1953 : 19 : 353-5.
2. Blechman AM, Smiley H. Magnetic force in orthodontics, Am J Orthod Dentofac Orthop 1978 : 74 : 435-43.
3. Becker JJ. Permanent magnets. Sci Am 1970 : 233 : 92-100.
4. Kawata T, Matsuga M, Kishigami H. Further study of new orthodontic treatment with a magnetic appliance. J Dent Res 1978 : 57 : 175(abstract 402).
5. Robinson AL. Powerful new magnet material found. Science 1984 : 223 : 920-922.
6. Muller M. The use of magnets in orthodontics; An alternative means to produce tooth movement. Europ J Orthod 1984 : 6 : 247-53.
7. Dellinger EL. A clinical assessment of the active vertical corrector-A nonsurgical alternative for skeletal open bite treatment. Am J Orthod Dentofac Orthop 1986 : 89 : 428-36.
8. Woods MG, Nanda RS. Intrusion of posterior teeth with magnets; An experiment in nongrowing baboons. Am J Orthod Dentofac Orthop 1991 : 100 : 393-400.
9. Vardimon AD, Graber TM, Voss LR, Verrusio E. Magnetic versus mechanical expansion with different force thresholds and points of force application. Am J Orthod Dentofac Orthop 1987 : 92 : 455-66.
10. Vardimon AD, Graber TM, Drescher D, Bourauel L. Rare earth magnets and impaction. Am J Orthod Dentofac Orthop 1991 : 100 : 494-512.
11. Sandler PJ. An attractive solution to unerupted teeth. Am J Orthod Dentofac Orthop 1991 : 100 : 489-93.
12. Darendeliler MA, Friedli JM. Treatment of an impacted canine with magnets. J Clin Orthod 1994 : 28 : 639-43.
13. Tsutsui H, Kinouchi Y, Sasaki H, Shiota N, Ushita T. Studies on the Sm-Co magnet as a dental material. J Dent Res 1979 : 58 : 1597-606.
14. Sandler PJ, Meghji S, Murray AM, Springate SD, Sandy JR, Crow V, Reed RT. Magnets and orthodontics. Br J Orthod. 1989 : 16 : 243-9.
15. Bruce GK, Howlett CR, Luckstep RL. Effect of a static magnetic field on fracture healing in a rabbit radius. Clin Orthop 1987 : 222 : 300-6.
16. Jones DB, Ryaby JT. 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 1987 : 389-97.
17. Linder-Aronson S, Lindskog S. A morphometric study of bone surfaces and skin reactions after stimulation with static magnetic fields in rats. Am J Orthod Dentofac Orthop 1991 : 99 : 44-8.
18. Camilleri S, McDonald F. Static magnetic field effects on the sagittal suture in rattus norvegicus. Am J Orthod Dentofac Orthod 1993 : 103 : 240-6.
19. Gorczyńska E, Wegrzynowicz R. Effect of static magnetic field on some enzymes activities in rat. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol 1989 : 33 : 149-55.
20. Aronow MA. Factors that promote progressive

- development of the osteoblast phenotype in cultured fetal rat calvaria cells. *J Cell Physiol* 1990 : 143 : 213-21.
21. Kodama H, Amagai Y, Sudo H, Kasai S, Yamamoto S. Establishment of a clonal osteogenic cell line from newborn mouse calvaria. *Jpn J Oral Biol* 1981 : 23 : 899-901.
 22. Choi JY, Lee BH, Song KB, Park RW, Kim IS, Sohn KY, Jo JS, Ryoo HM. Expression patterns of bone-related proteins during osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells. *J Cell Biochem* 1996 : 61 : 609-18.
 23. 김광덕. 정자기장이 MC3T3-E1 세포의 골결절형성에 미치는 영향, 경북대학교 치의학석사 학위논문 1996.
 24. Blechman AM. Comment on static magnetic field bioeffects. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1993 : 104 : 20A-22A.
 25. McDonald F. Effect of static magnetic fields on osteoblasts and fibroblasts in vitro. *Bioelectromagnetics* 1993 : 14 : 187-96.
 26. Malinin GI, Gregory WD, Morelli L, Sharma VK, Houck JC. Evidence of morphological and physiological transformation of mammalian cells by strong magnetic fields. *Science* 1976 : 194 : 844-6.
 27. Linder-Aronson S, Lindskog S, Rygh P. Orthodontic magnets : Effects on gingival epithelium and alveolar bone in monkeys. *Europ J Orthod* 1992 : 14 : 255-63.
 28. Linder-Aronson S, Lindskog S. Effects of static magnetic fields on human periodontal fibroblasts in vitro. *Swed Dent J* 1995 : 19 : 131-7.
 29. Darendeliler MA, Sinclair PM, Kusy RP. The effects of samarium-cobalt magnets and pulsed electromagnetic fields on tooth movement. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1995 : 107 : 578-88.
 30. 장우현. 정자기장이 배양치주인대세포의 Alkaline Phosphatase 활성도에 미치는 영향. 경북대학교 치의학석사 학위논문 1995.
 31. Papadopoulos MA, Horler J, Gerber H, Rahn BA, Rakosi T. Biologic effects of static magnetic fields on osteoblast cells in culture. *Eur J Orthod* 1990 : 12 : 490.
 32. Itegin M, Gunay I, Logoglu G, Isbir T. Effects of static magnetic field on specific adenosine-5'-triphosphatase activities and bioelectrical and biomechanical properties in the rat diaphragm muscle. *Bioelectromagnetics* 1995 : 16 : 147-51.
 33. Blechman AM, Steger ER. A possible mechanism of action of repelling molar distalizing magnets. Part I. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1995 : 108 : 428-31.

- ABSTRACT -

The effect of a static magnetic field of Nd-Fe-B magnet on alkaline phosphatase activity of MC3T3-E1 cells

Sook-Hee Kim, Oh-Won Kwon, Hyun-Mo Ryoo*

Departments of Orthodontics and Oral Biochemistry, College of Dentistry, Kyungpook National University*

Recently, the magnetic force has been considered as a method for a more efficient tooth movement. The purpose of this study was to evaluate the effects of different static magnetic fields of Nd-Fe-B magnet on MC3T3-E1 cells by measuring the alkaline phosphatase activity and observing the amount of stained alkaline phosphatase. For measuring of alkaline phosphatase activity, MC3T3-E1 cells were seeded in first and third row of 12 well culture plates. And Nd-Fe-B magnets were positioned under the first column of first and third row to apply different static magnetic fields(first column:100mT ; second column:4.6mT ; third column:0.5mT ; forth column:0.0mT) to the cells for 7, 13, 19, and 25 days. For staining of alkaline phosphatase, MC3T3-E1 cells were seeded in 100mm culture plates. And Nd-Fe-B magnets were positioned under the corner of plates to apply different static magnetic fields (magnet side:100mT ; the opposite side:0.5mT) to the cells for 7, 13, 19, and 25 days.

The results were as follows :

1. ALP activity was increased until day 19 in biochemical determination as well as in histochemical staining.
2. The application of higher magnetic field(100mT) suppressed ALP activity at day 13, 19, 25. On the contrary, the application of the lower magnetic field(4.6mT, 0.5mT) significantly enhanced the ALP activity.
3. Consistent with enzyme assay, histochemical staining of ALP also demonstrated that higher magnetic field(100mT) suppressed ALP activity, lower one(0.5mT) enhanced.

KOREA. J. ORTHOD. 2000 ; 30 : 205-214

※ **Key words** : Nd-Fe-B magnet, Static magnetic field, MC3T3-E1 cell, ALP activity