

임플란트에 연결한 영구자석이 임플란트 주위 뼈모세포의 분포와 부착에 미치는 영향에 관한 연구

경희대학교 치과대학 치과보철학교실, *서울아산병원 치과

오나희 · 최부병 · 권공록 · 백 진* · 이성복

I. 서 론

전자기장은 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.

전자기장의 생물학적 영향에 관한 연구는 뼈의 Piezoelectric properties에 관한 연구¹⁾를 시작으로 전자기장이 뼈에 미치는 연구, 특히 파절된 뼈에 있어서의 치유를 위한 비침습적 방법으로 연구가 진행되었다. Korenstein 등²⁾의 실험에서 전자기장 자극에 의해서 뼈세포가 증식한다는 간접적인 증거가 있었다. Bodamyali 등³⁾은 그들의 실험에서 전자기장 자극이 뼈 형성의 개시와 그에 관여하는 단백질의 합성을 증가시킨다고 보고하였으며, McDonald⁴⁾의 실험에서는 전자기장이 뼈모세포와 섬유모세포의 활성을 증가시킨다고 기술하였다. 이후 다양한 연구들에 의해 뼈모세포의 분화와 성장에 필요한 여러 단계에 대한 전자기장의 영향이 밝혀지고 있다.

치의학에서는 교정학과 치주학 분야에 주로 적용되었으나⁵⁻⁷⁾ 골유착성 임플란트의 사용이 보편화되면서 임플란트와 뼈의 유착 기간을 감소시켜 임플란

트 시술에 걸리는 기간을 단축시키려는 의도 하에 전자기장을 이용한 임플란트 주위의 뼈 형성 및 뼈 성장에 미치는 영향에 대하여 연구가 진행되었다.

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 단계인 임플란트 주위 뼈모세포의 분포와 부착에 대하여 영구자석의 자력이 미치는 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 3.5mm, 길이 10mm의 hollow cylinder 임플란트(ITI, Straumann, Switzerland)를 사용하였다.

3) 영구자석

Healing cap 형태로 제작된 네오디미움 자석 (Titanmagnetics Konusinsert, Steco-system-technik, Germany)을 사용하였다. 대조군에는 일반 healing cap을 연결하였다. 실험에 사용한 영구자석의 자력은 임플란트 neck 부위에서 약 9.6 가우스 (Gauss), 거리가 멀어질수록 점차 감소하여 apex 부위에서는 약 0.9 가우스를 나타내었다.(Fig. 1)

4) 세포 배양판

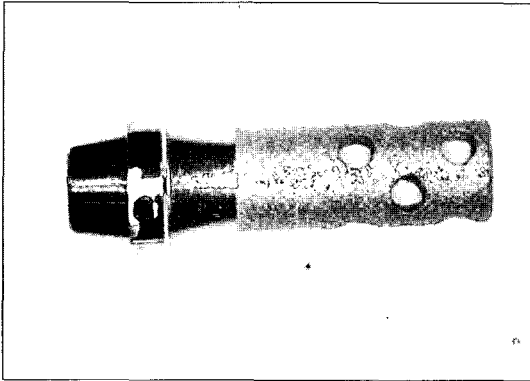
6-well 세포 배양판(Flacon, USA)의 뚜껑에 플라스틱 막대를 이용하여 임플란트를 연결하고 고정시

켰다.(Fig. 2) 이 때, 임플란트의 측면이 세포 배양판의 바닥과 접하도록 위치시켰다.(Fig. 3)

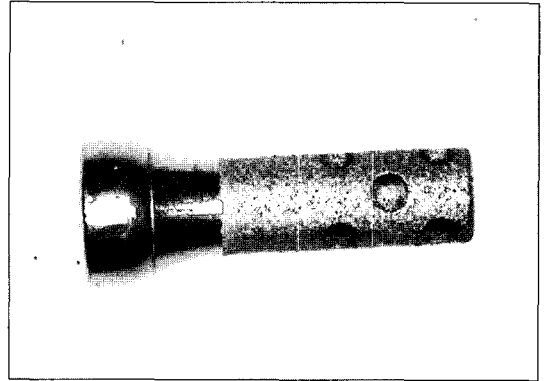
2. 실험방법

1) 세포 배양

MC3T3-E1 세포는 10% Fetal Bovine Serum (FBS: Gibco, USA)과, Penicillin (100 unit/ml)-Streptomycin (100 μ g/ml)(Gibco, USA)이 포함된 α -Minimum Essential Medium(α -MEM; Gibco)을 배양액으로 하여 배양하였다. $5 \times 10^5/ml$ 의 세포 농도로 실험군과 대조군 각 4개씩 8개의 세포 배양판



a: connecting with magnet (Titanmagnetics Konusinsert, Steco-system-technik, Germany).



b: connecting with healing cap (control group).

Fig. 1. Hollow cylinder implant (ITI, Straumann, Switzerland).

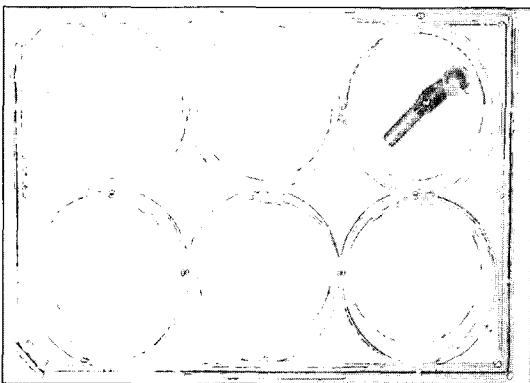


Fig. 2. Cell culture plate (Flacon, USA) which connected to the implant.

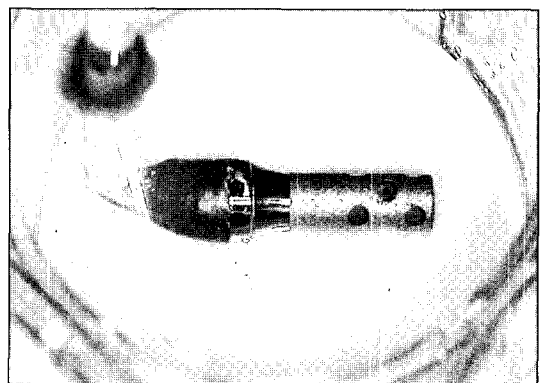


Fig. 3. Axial surface of implant contact to the base of the plate.

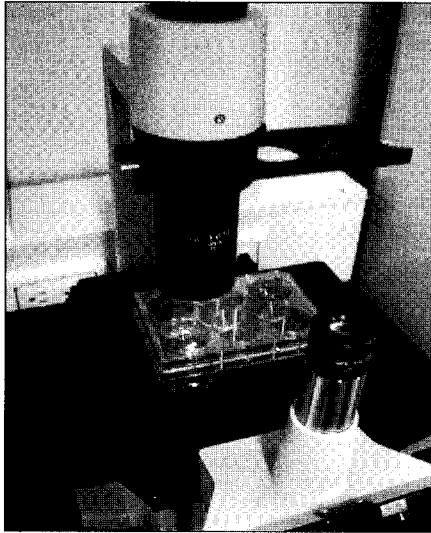


Fig. 4. Inverted microscope (Olympus, Japan).

(Falcon, USA)에 7ml씩 분주하였다.

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

2) 임플란트 주변 세포의 분포 관찰

세포배양 48시간 후에 세포 배양판을 역광 현미경 (Olympus, Japan)으로 옮겨서 10배율 하에서 영구자석에 가까운 임플란트 neck 부위에서부터 자석과 먼 apex쪽으로 가면서 사진을 촬영하여 사진 상에 나타나는 뼈모세포의 분포를 관찰하고 비교하였다.(Fig. 4)

3) 부착 세포 수의 관찰

세포 배양 72시간 후에 세포 배양판에서 임플란트를 분리하여 Hanks balanced salt solution (HBSS) 1.5ml에 1회 수세한 후 0.05% trypsin - 0.53mM tetrasodium ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA; Gibco, USA) 2ml에 4분간 담가 임플란트에 부착된 뼈모세포를 모두 털어내었다. 임플란트를 제거한 후 3분간 원심분리 하고 상층액을 제거하였다. 그 후 다시 10% Fetal Bovine Serum(FBS; Gibco, USA) 2ml를 첨가하고 세포가 고르게 풀어지도록 한 후 Ependorf tube에 18μl를 옮긴 후 2μl의 Trypan blue를 첨가하였다. Counter chamber

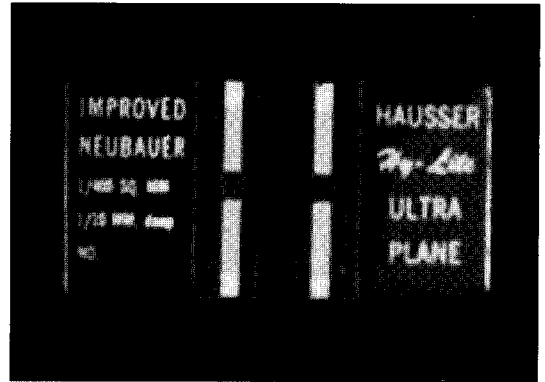


Fig. 5. Cell counter chamber(Hausser Scientific Blue Bell, Pa).

(Hausser Scientific Blue Bell, Pa)에 약간을 옮겨서 역광 현미경 하에서 세포 수를 관찰, 비교하였다.(Fig. 5)

3. 통계분석

통계처리는 SPSS 프로그램(version 11.0)을 이용하여 시행하였다. 부착된 세포 수의 평균과 표준편차를 계산하였다. 독립표본 T-test를 이용하여 통계처리 하였다.

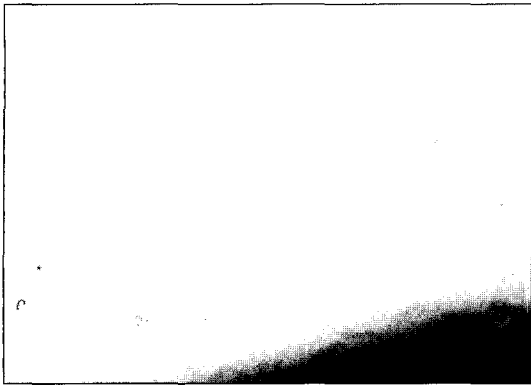
Ⅲ. 연구성적

1. 임플란트 주변의 세포 분포의 관찰

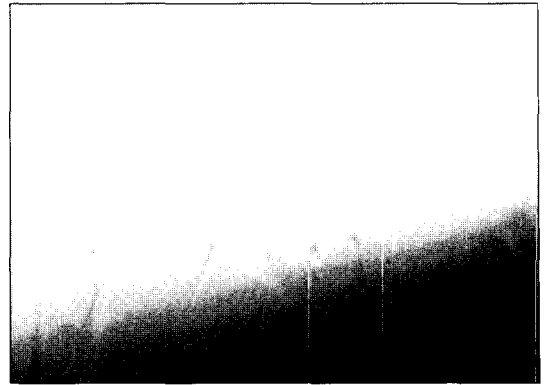
현미경 상에서 관찰, 비교한 결과 실험군 임플란트 주위에서 대조군에 비해 더 많은 수의 뼈모세포가 관찰되었고, 실험군 임플란트에서 neck 부위에 근접할수록 뼈모세포의 수가 더 많았으며 apex로 갈수록 세포의 분포가 감소하였다.(Fig. 6, 7)

2. 임플란트 표면에 부착된 세포 수의 비교

실험군 임플란트에 부착한 세포의 수가 대조군 임플란트에서 보다 많은 것으로 나타났고 통계학적으로 유의성 있는 차이를 보였다.(p<0.05) (Table I, Fig. 8)

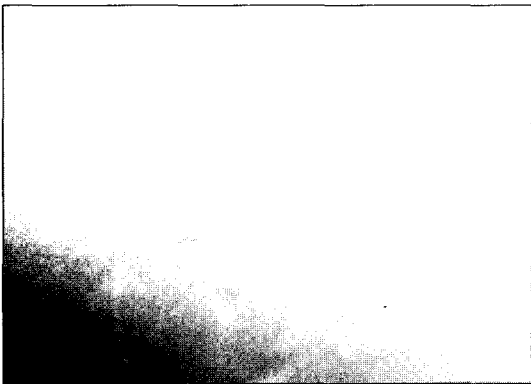


a : neck area of implant

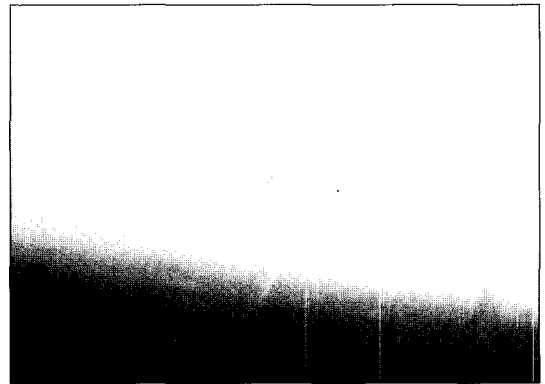


b : apex area of implant

Fig. 6. Distribution of MC3T3-E1-cell under the magnetic field.



a : neck area of implant



b : apex area of implant

Fig. 7. Distribution of MC3T3-E1-cell without magnet (control group).

Table I. The comparison of attached cell number ($\times 10^4$, $p < 0.05$)

Sample number	Control Group (without Magnet)	Experimental Group (with Magnet)
1	0.6	1.5
2	0.75	2.1
3	1.1	1.25
4	0.65	1.05
Average (S.D.)	0.78(0.23)	1.48(0.46)

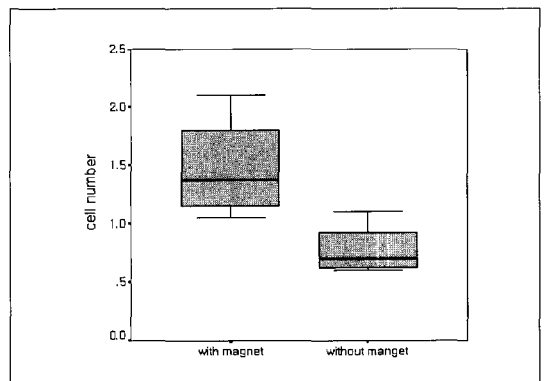


Fig. 8. The comparison of attached cell number ($\times 10^4$, $p < 0.05$).

IV. 총괄 및 고안

임플란트가 치과분야에 사용된 이래로 임플란트 주위 뼈세포의 부착과 뼈 형성을 개선시켜 임플란트의 안정성을 증진시키고 치료기간을 단축하기 위한 많은 연구가 진행되었다. 아직까지 이러한 연구들은 주로 임플란트의 표면처리나 임플란트 fixture의 형태 디자인을 개발하는 데에 집중되어 왔다. 그러나 임플란트 자체의 기계적인 측면의 개선 외에도 임플란트가 식립된 주변 치조골의 뼈 형성을 촉진시킬 수 있는 방법도 생각해 볼 수 있다.

한편, 전자기장에 의한 뼈모세포 활성의 증가와 뼈 형성 촉진에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 뼈 형성을 촉진하기 위해 전기를 사용하는 것에 대한 관심은 Yasuda⁹⁾가 전기적 자극으로 뼈 형성을 유도한 1953년에 크게 증가하였다. Yasuda는 더 나아가 부하가 가해질 때 건조된 뼈에서 전위차가 나타나는 것을 관찰하였다.^{1,9)} 이런 연구들이 뼈에 가해진 기계적인 자극이 뼈의 대사를 변화시키고, 뼈의 양을 증가시키거나 뼈의 구조를 변화시킬 지도 모르는 전자기전위(electromagnetic potentials) 또는 전자기장(electromagnetic fields, EMFs)을 유도한다는 가설을 뒷받침해 준다.

Yasuda의 연구 이후에도, 많은 연구자들이 뼈의 치유에 있어서 전자기장의 잠재적인 효과에 대하여 연구하여 이를 지적하였다. 외부의 전자기장은 인공적으로 만든 손상부위의 뼈 형성과 골절의 치유,¹⁰⁻¹³⁾ partial limb의 재생¹⁴⁻¹⁵⁾을 포함한 다양한 경우에서 유용하게 이용될 수 있음이 나타났다. 외부의 전자기장은 임상적으로 비유합된 골절의 치료에도 사용되어졌다.

전자기장 노출은 뼈세포에 직접적으로 영향을 주어 뼈의 재형성을 촉진시킨다.¹⁶⁻¹⁸⁾ Inoue 등¹⁹⁾은 전자기장 자극 이후 미분화간엽세포들이 뼈모세포와 뼈세포로 분화하는 것을 관찰하였다. Matsunaga 등²⁰⁾은 알칼리성인산분해효소의 활성이 증가되는 것을 측정함으로써 전자기장 노출에 의해서 뼈모세포의 증식과 분화가 증가하는 것을 관찰하였다.

이처럼 뼈모세포의 활성화에 영향을 줄 수 있는 전자기장을 적용하는 방법은 전류를 이용한 방법과 자석을 이용한 방법으로 나눌 수 있다. 전류에 의해 형성된 자기장을 이용한 방법은 보편화되어 있고 이미

많은 연구가 진행된 반면 자석에 의해 형성되는 자기장을 이용하는 것에 대한 연구는 자석의 크기와 적용한계 때문에 널리 응용되지 못하였다.

자석을 이용한 연구는 1970년대 회도류 자석이 개발되어 인체에 적용 가능한 작은 크기로도 충분한 자성을 얻을 수 있게 된 후 서서히 활성화 되기 시작했다. 1981년 Esformes 등²¹⁾은 사마리움-코발트(Sm-Co) 자석에 의한 자기장이 인체에서 세포의 성장속도, 형태, 성장능력에 미치는 유해한 효과는 없다고 하였으며, Sato 등²²⁾도 세포의 DNA 합성이나 성장속도, 형태에 해로운 영향을 미치지 않는다고 하였다. Camilleri 등²³⁾은 rattus norvegicus의 시상 봉합(sagittal suture)에 네오디미움 자석을 매식하여 뼈의 재형성을 관찰한 결과 자석을 매식하지 않은 대조군에 비하여 술 후 초기 3일 동안 thymidine의 흡수가 증가하였고 따라서 자기장이 세포의 분열능력에 영향을 미친다고 하였다. 1998년 Yan 등²⁴⁾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. 그러나 자석 주위 BMD는 수술을 받지 않은 정상 골의 BMD와 유사하였으며 따라서 자석에 의한 자기장이 외과적 수술에 의한 손상에 의하여 BMD가 감소하는 것을 예방할 수 있다고 하였다. 2001년 Xu 등²⁵⁾도 유사한 결과를 보고하였는데, 특히 동맥을 차단한 경우에도 BMD가 유지되는 것으로 보아 혈액 순환 개선에도 효과가 있는 것으로 나타났다.

그러나 뼈세포에 대한 자기장의 부정적 영향에 대한 보고도 있는데, 이는 실험에 사용한 자기장의 세기와 적용 시간 등에 따라 달라지는 것으로 보이며, 따라서 뼈세포에 긍정적 영향을 미칠 수 있는 적절한 자기장의 세기를 알아보는 것도 중요하다. 2003년 조 등²⁶⁾과 이 등²⁷⁾의 연구에 따르면 10 가우스 정도의 자기장의 세기에서 뼈모세포의 활성이 가장 증가하였으며 뼈 형성에 관여하는 수용체의 발현 빈도도 높게 나타났다.

본 실험에서는 자성이 뼈모세포에 미치는 긍정적 영향에 착안하여 임플란트 시술에 임상적 응용 가능성을 알아보기 위한 실험으로 가장 기초적 단계인 뼈모세포의 분포와 부착에 대한 자기장의 영향에 대

하여 살펴보았다. 이 실험에서도 자기장이 존재하는 경우에 임플란트 주위에 세포 밀집도가 더 높았으며 실제 임플란트에 부착된 뼈모세포의 수도 더 많은 것으로 나타났다. 따라서 향후 임플란트 주위 뼈 기질 형성에 관한 실험과 동물 실험 등 더 많은 실험과 더불어 적절한 자성의 세기와 적용기간에 대한 연구도 필요할 것으로 생각되며, 이러한 추가적인 연구 후 임상적으로 구강 내 임플란트의 조기 부하 등의 분야에 있어서 응용 가능할 것으로 판단된다.

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 하여 주위 뼈모세포의 분포를 관찰하고, 임플란트에 부착한 뼈모세포의 수를 비교하였다.

그 결과

1. 영구자석과 연결된 임플란트 주위의 뼈모세포의 밀집도가 대조군에 비하여 다소 높은 것으로 관찰되었다.
2. 영구자석과 연결된 임플란트 주변 세포 관찰에서 약 10가우스의 자력을 보이는 neck부위의 세포 분포가 apex 부위 보다 많았다.
3. 영구자석과 연결된 임플란트에 부착한 뼈모세포의 수가 대조군에 비하여 유의성 있게 많았다.

이상의 결과로부터 영구자석의 자기장이 임플란트 주위 뼈모세포의 분포와 부착 증가에 영향을 미치고 그 영향은 약 10가우스에 가까운 neck 부위에서 명확하게 나타나는 것을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Yasuda I, Fukuda E. On the piezoelectric effect of bone. J Physiol Soc Japan 1957; 12:121-128.
2. 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 984:803:302-307.

3. Bodamyali T, Bhatt B, Hughes FJ, Winrow VR, Kanczler JM, Abbott J, Blake DR, Stevens CR. Pulsed electricmagnetic fields simultaneously induce osteogenesis and up-regulated transcription of bone morphogenic proteins 2 and 4 in rat osteoblast *in vitro*. Biochem Biophys Res Commun 1998;250:458-461.
4. McDonald F. Effect of static magnetic fields on osteoblasts and fibroblasts *in vitro*. Bioelectromagnetics 1993;14:187-196.
5. Bassett CA, Pawluk RJ, Pilla AA. Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields. Science 1974;184:575-577.
6. Jacobs JD, Norton LA. Electrical stimulation of osteogenesis in pathological osseous defects. J Periodontol 1976;47:311-319.
7. Kawata T, Hirota K, Sumitani K. A new orthodontic force system of magnetic brackets. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1987;92:241-248.
8. Yasuda I, Nagayama H, Kato T, et al. Fundamental problems in the treatment of fracture. J Kyoto Med Soc 1953;4:395-406.
9. Yasuda I. Piezoelectricity of living bone. J Kyoto Pref Univ Med 1953;53: 325.
10. FriedenberG ZG, Robert PG, Didizian NH, Brighton CT. Stimulation of fracture healing by direct current in the rabbit fibula. J Bone Joint Surg 1971;53A:1400-1408.
11. 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.
12. Bassett CA, Pawluk RJ. Noninvasive method for stimulating osteogenesis. J

- Biomed Mater Res 1975;9:371-374.
13. 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.
 14. Smith SD. Effect of electrode placement on stimulation of adult frog limb regeneration. *Ann NY Acad Sci* 1974;238:500-507.
 15. Becker RO. Electrical osteogenesis-pro and con. *Calcif Tissue Res* 1978;26:93-97.
 16. Kubato K. Effect of electrical currents of alveolar bone defects. *J Kyushu Dent Soc* 1982;36:64-81.
 17. Karaki R. Experimental study of internal remodeling and callus formation in mandible by electrical stimulation. *J Kyushu Dent Soc* 1979;32:590-608.
 18. Takahashi H. The effects of microelectric current on internal remodeling of bone. *Orthop Res Sci* 1980;7:517-527.
 19. 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.
 20. 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.
 21. Esformes I, Kummer FJ, Livelli TJ. Biological effects of magnetic fields generated with CoSm magnets. *Bull Hosp Jt Orthop Inst* 1981;41:81-87.
 22. 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.
 23. Camilleri S, McDonald F. Static magnetic field effects on the sagittal in *Rattus nirvegicus*. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1993;103:240-246.
 24. Yan QC, Tomita N, Ikada Y. Effect of static magnetic field on bone formation of rat femur. *Med Eng Phys* 1998;20:397-402.
 25. 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.
 26. 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.
 27. 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:

Boo-Byung Choi, D.M.D., M.S.D., Ph.D.

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

ABSTRACT

THE EFFECT OF PERMANENT MAGNET CONNECTING WITH DENTAL IMPLANT ON DISTRIBUTION AND ATTACHMENT OF OSTEOBLAST-LIKE CELL AROUND THE DENTAL IMPLANT

Na-Hee Oh, D.M.D., Boo-Byung Choi, D.M.D., M.S.D., Ph.D., Kung-Rock Kwon, D.M.D., M.S.D., Ph.D.,
Jin Baik*, D.M.D., M.S.D., Sung-Bok Lee, D.M.D., M.S.D., Ph.D.

Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Kyung-Hee University

**Department of Dentistry, Asan Medical Center*

Purpose: The purpose of this study is to find the effect of rare earth magnet's magnetic field of to the osteoblast around the implant by the means of observation number, and distribution around the implant which is connected to the permanent magnet but not, counted and compared by the number of cells attached to the surface of the implant.

Material and method: The permanent magnets, made in the healing cap form, 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 implant were connected to normal healing cap, and cultured in the same conditions. 48 hours later, using inverted microscope, the number and distribution of osteoblast around the implant were observed, and 72 hours later, the number of the cells attached to the implant were counted.

Results: As a result, the implant connected to the permanent magnet had proved to have a more concentrated cell distribution rate than the control group. The implant connected to the permanent magnet, neck area: which has about 10 gauss magnetic force, had more cells than apex area. The implant connected to the permanent magnet had proven to attach to the osteoblast more productively than control group's implant.

Conclusions: This research showed that the magnetic field of the permanent magnet affected the distribution and growth rate of the osteoblast around the implant. In order to support this study, it also had need to monitor the progress of the permanent magnet specifically shown on the neck area, which has 10 gauss magnetic force. So after additional research on the distribution and attachment of the cells, and further more, on bone formation, it will be concluded that the clinical applications, such as immediate loading of implant treatment are possible.

Key words : Dental implant, Permanent magnet, Osteoblast-like cell