

脈動 電磁氣場이 白鼠의 培養 頭蓋冠細胞에 미치는 影響

서울대학교 大學院 齒醫學科 齒科矯正學教室

崔 炳 澤 · 梁 源 植

一 目 次

- I. 緒 論
- II. 文獻考察
- III. 實驗材料 및 實驗方法
 - 1) 脈動 電磁氣場
 - 2) 細胞培養 및 分析方法
- IV. 實驗成績
- V. 總括 및 考按
- VI. 結 論
 - 參考文獻
 - 英文抄錄

I. 緒 論

矯正력에 의한 正常的 齒牙移動은 骨改造에 의하여 일어나며 이에 影響을 미치는 要因은 대단히 많다¹⁾. 特히 骨에 대한 物理的인 힘²⁾, 副甲狀腺호르몬³⁾, prostaglandin⁴⁻⁷⁾ 등의 影響은 이미 廣範圍하게 研究되었으며 電氣的 刺戟도 많은 注目を 받아왔다⁸⁻¹⁵⁾. 齒牙에 外力을 加하여 齒槽骨에 微細한 變形을 일으키면, 齒槽骨과 齒牙에 微弱한 電位差가 發生하여, 壓迫側에는 陽電荷가, 伸張側에는 陰電荷가 發生한다는 事實은 오래 前에 밝혀진 바 있다^{16,17)}. Yasuda¹⁸⁾는 生體實驗에서 大腿骨을 구부려서 壓電現象이 存在함을 밝혔으며 壓迫測과 伸張側에서 各各 陽과 陰의 電位差를 記錄했고 한

편 逆으로 金屬電極을 骨에 심어서 電流를 흘러 骨形成을 誘導하였는데, 機械的인 힘이 電氣的인 刺戟으로 바뀌어서 細胞의 反應을 惹起하며 最終 刺戟은 電氣刺戟이라고 하였다.

近來에는 整形外科 分野에서 骨折 不癒合이나 假性 關節症 時에 外因性 電氣刺戟을 通하여 骨形成을 促進시켜 治療의 成功率를 높였다^{19,20)}. 이러한 概念은 齒科領域에도 應用할 수 있는데, 非正常 成長을 하는 患者의 顔面骨 成長 改善과 口蓋破裂 患者에서 骨成長을 誘導시키거나, 拔牙 後 齒槽骨의 治癒를 有利하게 하고, 外科的 矯正施術 後 局所의 治癒를 增進시키며, 齒周疾患 患者에서 新生骨을 添加시키는 等의 可能性에 대하여서도 論議된 바 있다⁹⁾. 脈動 電磁氣場(pulsed electromagnetic field, PEMF)은 變化하는 磁氣場 內에 位置한 導體에 電流가 誘導된다는 物理的 法則에 따라 生體를 導體로 볼 때 PEMF를 形成하면 同一한 效果를 얻을 수 있다는 概念으로 臨床에 應用되고 있다. 앞서 言及한 外因性 電氣刺戟 治療法은 電極을 患部에 埋植하거나 刺入하여 施術하는데 反해서, PEMF를 利用한 治療는 電極의 外科的 插入이나 除去가 必要치 않기 때문에 整形外科 治療에 많이 利用되었다. 勿論, 以上의 두가지 方法이 電流를 媒介로 하여 類似한 效果를 얻을 수는 있다 하지만 電極을 通한 直流의 흐름은 PEMF에 比하여 空間의 所以로 制限이 되고 있으며 質의 으로도 差異가

있음을指摘받고 있는데, Norton²¹⁾은 直流는 細胞膜을 通過하지 않고 細胞表面의 이온 再分配나 電荷를 띤 分子의 運搬을 通하여 細胞膜의 電氣化學的 變化를 일으키지만, PEMF는 細胞膜 水準에서 作用하기도 하고 細胞膜을 通過할 能力이 있어서 直接的으로 細胞內 小器官에 影響을 미친다 하여, PEMF가 直流보다 生物學的 反應을 일으키는데 더 效果的이라고 하였다.

現在 骨折 不癒合 時 骨折 部位에 存在하는 纖維軟骨이 PEMF에 의하여 石灰化가 加速化 된다는 事實을 根據로^{22,23)} PEMF에 의한 骨折 不癒合 治療法이 臨床에서 使用되고 있고, PEMF가 軟骨에 影響을 미칠 수 있다는 實驗 結果도 提示되었다^{24,25)}. 齒科矯正學的인 面에서 考慮해 볼 때 下顎顎頭 成長에 대한 PEMF의 作用 機轉이 骨折 不癒合 治療 時의 纖維軟骨에 대한 PEMF의 作用機轉과 關聯이 있다고 할 수 있으나²⁷⁾ 直接 齒牙移動에 關聯된 造骨細胞 및 破骨細胞 등에 미치는 影響은 많이 알려져 있지 않으며, 萬一 直接的으로 造骨細胞와 破骨細胞의 機能에 影響을 미칠 수 있다면 齒列矯正의 治療期間 短縮 및 上顎骨 急速擴大 以後의 安定性에 큰 寄與를 할 수 있다고 볼 수 있다.

齒科矯正學 領域에서도 電氣刺戟 및 PEMF를 利用한 實驗結果가 報告된 바 있었으며²⁶⁻²⁸⁾, 短期的 研究結果이기는 하지만 臨床 適用 可能性에 대하여 肯定的인 것으로 나타났다. 이를 뒷받침하기 위한 研究는 아직도 많이 要求되며 이 研究의 一環으로서 連續酵素處理 方法으로 骨組織細胞를 5個群으로 分離 培養한 後 PEMF 適用 下에 alkaline phosphatase와 acid phosphatase의 活性, 콜라겐 合成 및 ³H-thymidine의 編入을 測定하여 有意한 成績을 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 文獻考察

1957年 Fukada와 Yasuda²⁹⁾는 骨에 加해지는 힘이 電氣的으로 陰性인 部位를 만들어 내며, 이러한 效果를 骨 結晶構造物의 壓電現象

(piezoelectric phenomenon)이라고 하였다. Shamos 等³⁰⁾도 應力에 의하여 骨에 誘導되는 電氣의 效果를 觀察하였고, Bassett와 Becker³¹⁾는 發生되는 電位の 크기는 骨의 變形速度와 變形量에 依存되어 있으며 그 極性は 變形되는 方向에 좌우된다고 하였다. Bassett 等³²⁾은 生體의 骨에 電極을 심어서 나타나는 反應을 觀察한 結果, 陰極 部位에서는 骨形成이 增加하였으나 陽極 部位에서는 骨吸收가 보이지 않았다고 했다. 電氣刺戟 效果에 대한 研究結果는 臨床에 利用하고자 試圖되었는데, 微弱한 電流를 適用시켜 骨折不癒合을 治療하려 했던 電流는 그 性質上 直流이었으며 臨床 適用은 1960年代 初에 시작된 骨에 대한 直流刺戟 研究³²⁾에 그 基礎를 두고있다. 이러한 一連의 研究로 骨이 받는 應力이 骨組織에 電位差를 誘導하며, 逆으로 電位差를 骨에 주었을 때 骨에 反應이 일어난다는 것이 證明되어 이를 起點으로 많은 研究가 이루어지게 되었다³³⁻⁴²⁾.

電氣刺戟에 대한 齒科分野의 研究로서, Cochran 等⁴³⁾은 齒牙에 荷重을 加하여 이때 發生하는 電位를 測定하였으며, 咀嚼이나 嚥下, 그리고 骨內 體液의 動的 作用을 通해서 電流가 發生할 수 있다는 假設을 세웠고, Gillooly 等⁴⁴⁾은 齒牙에 荷重을 주어 齒槽骨로부터 電位差를 記錄했는데, 齒牙에 加해지는 힘의 方向과 크기에 따라 電位差가 決定된다고 하였다. Norton⁸⁾은 機械의 에너지가 生體에서 電氣的 에너지로 바뀔 때 나타나는 여러가지 效果들이 細胞의 營養調節, 局所의 水素이온 濃度(pH)調節, 酵素의 活性 및 抑制, 細胞內 巨大分子의 變化, 細胞의 移動能과 增殖活性, 細胞의 合成能 및 細胞膜 透過性의 變化 等이라고 했다. Kopyczyk 等⁴⁵⁾과 Jacobs와 Norton⁴⁶⁾은 齒周病에 걸린 개에서 直流를 使用하여 喪失된 齒槽骨을 再生시키려고 하였고, Masureik 等⁴⁷⁾은 電流를 利用하여 顎骨 骨折 治療를 試圖하였다.

電氣刺戟에 대한 組織化學的 研究로서, Davidovitch는 고양이 齒槽骨에 直流電極을 適用시켰을 때 齒槽骨의 cyclic nucleotide의

량이 증가했다고 하였으며⁴⁸⁾, 齒周組織의 造骨細胞 數의 增加와 陰極 近處에서 骨添加를 觀察하였고, 矯正力과 電流를 合하여 適用시켰을 때 齒牙 移動量이 더 많아졌다고 했다¹⁰⁾.

國內에서는 양 等²⁶⁾이 galvani 電流를 利用하여 下顎顆頭成長을 觀察하였고, 金 等¹¹⁾은 고양이 齒槽骨에 대한 電氣刺戟 時 齒牙移動이 빠르며 cAMP의 變化가 있다는 것을 報告하였으며 이는 Davidovitch⁴⁸⁾의 實驗結果와 類似하였다. 이 외에도 電流가 어떻게 生體에 影響을 미치는가를 糾明하기 위한 研究들이 報告되었으며⁴⁹⁻⁵¹⁾, Norton²¹⁾은 一般的으로 電氣的 交亂이 荷電分子의 集團으로 이루어진 細胞膜의 受容點(receptor site)에 影響을 주어 이온을 移動시키며 細胞增殖과 關聯된 DNA 合成 增加, 細胞週期에 있어서의 變化와, 局所的인 水素이온濃度 變化 및 酸素分壓의 變化 等を 惹起한다고 했다. Rodan⁵²⁾은 電氣的 交亂이 일어나는 機轉으로서 細胞膜附着 酵素活性的 變化가 있다고 했고, 細胞膜을 통해서나 細胞膜 內部에서 이온 再分配가 일어나며 細胞膜 轉位(rearrangement)가 일어난다고 했다. 이와 같이 生體에 미치는 直流 刺戟效果에 대한 研究와 함께 整形外科의 臨床適用을 위한 여러가지 實用的인 理由로서 電極을 심어서 治療하는 方法에 대한 改善策이 대두되었다. 즉 治療를 위하여 電極을 恒常 外科的으로 심을 수는 없으며 除去를 위하여 다시 한번 手術을 해야하고, 組織內에서는 電極에 의한 電氣分解作用이 있으며, 骨形成量이 電極 部位에만 空間的으로 制限이 되는 等의 몇가지 不合理한 점이 指摘되어⁵³⁾ 이를 解決하기 위한 다른 方法들로 容量 結合(capacitive coupling)에 의한 電氣刺戟과 電磁氣場에 의한 電氣刺戟法 等이 提示되었다. 容量 結合에 의한 電氣刺戟은 結合組織細胞의 合成能을 促進시키는데 效果의이고 骨 治療를 도와주며, 適切한 振動數를 利用하면 生物學的 反應이 더 效果의으로는 나타나나 比較的 높은 電位를 必要로 하여 역시 臨床的으로 非實用的이었다⁵⁴⁾.

誘導 結合 時間變換 磁氣場(Inductively coupled time-varying magnetic field)은 낮

은 電位로 電流를 誘導할 수 있는 데, 그 方法은 電磁氣場內에 位置한 導體에 電流가 흐를 수 있다는 物理的 法則에 根據를 두고 開發되어⁵⁵⁾ 臨床에 처음 利用되었다⁵⁶⁾. Norton²¹⁾은 生體의 磁氣的 透過性이 空氣와 類似하기 때문에 生體組織은 PEMF를 全部 通過시킨다고 하였으며, 비록 各 組織마다 電氣的 特性이 다르다고 하여도 PEMF內에 있는 組織은 모두 같은 波形에 露出되어 있다고 하였다. Bassett²²⁾는 PEMF가 가지는 特性에 關해서, 電極이 없으므로 電極에 의한 電氣分解產物이 없고, 細胞와 細胞膜 近處의 이온에 選擇的인 影響을 미치는데 이것은 波의 上昇時間, 形態, 反復率 等の pulse design을 통해 이루어지며 直流에서는 不可能한 調和된 振動數의 共鳴效果를 만들어 낸다고 했다. 電流를 誘導하는 磁氣場을 最大限 均一하게 하기 위해서는 한쌍의 原型 coil을 그 直徑의 半이 되는 距離(半徑)에 두고 維持시키는데 이를 Helmholtz coil (Fig. 1)이라고 하며 患者治療에 利用되어 높은 成功率를 보여주었다⁵⁷⁻⁶⁰⁾. 電磁氣場을 만드는 方法은 이러한 形態의 coil 外에도 solid iron core를 利用한 電磁石이 있다^{61,62)}.

PEMF를 利用한 骨折治療에 關해서, Schmitt⁶³⁾는 骨切斷 手術 後 行動이 制限된 어린이에서 顯著히 낮았던 alkaline phos-

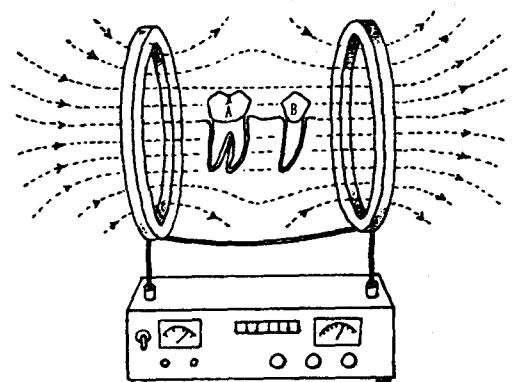


Fig. 1. Diagram of a Helmholtz coil pair with uniform magnetic flux density between the coils. Voltages induced in conductors placed at either position A or B will be equal.

phatase의 활성이 PEMF로治療後 높이上昇되었다고 하여 PEMF가 造骨細胞 活性에 影響을 미칠 수 있다고 생각한데 反하여, Bassett²²⁾는 PEMF가 假骨과 纖維軟骨의 石灰化의 量과 程度를 높여주는 것이지, 造骨細胞의 活性에는 直接 影響을 미치지 않는다고 하였으나, 脈動電流를 잘 調節함으로써 間充組織細胞를 選擇的으로 調節할 수 있다고 하였는데 그것은 첫번째로, DNA 合成을 觸發시켜 間充組織細胞의 數를 높이는 波, 두번째로 콜라겐과 proteoglycan의 量을 最大化하는 波 그리고 마지막으로 石灰化를 增加시키는 波로서 이들을 順次的으로 利用하여 骨折 不癒合 治療에 適用할 것을 提示하였다. 그러나, 現在 臨床에서 使用하고 있는 PEMF는 骨의 自然治癒過程이 停止된 境遇에 이를 再開시키는 것이며, 現在는 纖維軟骨에 影響을 주어 骨折 不癒合을 治療하는 波와는 아주 다른 波形信號를 研究中에 있다⁶⁴⁾.

PEMF가 細胞 및 組織에 미치는 影響에 關해 많은 研究가 있었는데, Peters等⁶⁵⁾은 數種의 哺乳動物 細胞를 極超短波에 露出시킨 境遇 細胞成長에 있어서 非熱性 抑制效果가 있다고 하였고, Norton²⁴⁾은 臨床에서 使用하는 것과 類似한 波形의 PEMF를 병아리 胚의 培養 混合軟骨細胞에 適用시킨 結果, 基質의 lysozyme 活性을 높이고 石灰化를 일으키므로 正常治癒를 加速化시키며 이것은 軟骨內 骨成長과 骨折時의 正常 治癒過程과 類似하다고 하였다.

Rooze等⁶⁶⁾은 생쥐 胚에 대한 PEMF 實驗에서 軟骨의 粘液多糖類의 量이 增加함을 보았고, β -glucuronidase의 活性이 높아지며 acid phosphatase의 活性이 낮아진다는 事實을 알았으며 Hinsenkamp等⁶⁷⁾은 電磁氣信號가 新生 생쥐와 胎子의 四肢의 形態와 代謝에 變化를 일으키는 것을 觀察한 바 있다. Bassett²²⁾는, 骨折 不癒合時 纖維軟骨의 成熟 機轉의 模形으로서, 多量의 proteoglycan으로 因하여 陰電荷를 띠고있는 纖維軟骨에 칼슘이 沈着되어 陰電荷가 中和되며 그 結果, 表面電荷가 陰性인 血管內皮가 쉽게 浸透될 수 있어서 石灰化가 加速화된다고 한 反面, Smith等²⁵⁾은 成

長中인 骨과 關節軟骨에서 PEMF를 持續的 또는 間歇的으로 適用시킨 結果, PEMF가 骨成長에는 影響을 미치지 않았으나 glycosaminoglycan의 形成과 함께 軟骨의 早期 成熟에 抑制效果를 가진다고 하였다.

Yamada等⁶⁸⁾은 PEMF가 骨細胞代謝, 頭蓋冠의 吸收 및 칼슘 代謝에 미치는 影響을 研究하였으나 骨細胞에서 alkaline phosphatase의 濃度나 콜라겐 合成이 增加하는 것을 보지 못하였고, 칼슘 代謝에서도 어떤 意味있는 變化를 發見하지 못하였다. 그러나 Shteyer等⁶⁹⁾은 頭蓋冠 細胞에서 PEMF에 의하여 DNA 合成이 增加됨을 觀察하였고 이는 特定에너지의 波形이 骨細胞에 直接 影響을 줄 수 있다는 可能性을 보여준 것이었다. 事實上, PEMF의 適用에 關한 臨床研究는 오히려 基礎的인 研究보다 더 앞서 發表되었으며 刺戟劑 役割을 해왔다고 할 수 있다. 整形外科分野의 臨床報告나⁷⁰⁻⁷⁵⁾ 動物實驗 및 試驗官內 實驗⁷⁶⁻⁸²⁾ 以外에 齒科領域에서도 PEMF에 關한 研究들이 있었다. Gerling等²⁷⁾은 PEMF를 guinea pig의 下顎顆頭에 適用시켜서 血管生成의 增加, 軟骨細胞間 基質의 添加 및 交織骨 形成을 觀察하였고 이 機轉은 軟骨 基質이 띠는 陰電荷가 PEMF에 의해 中和되는 結果로 說明하고 있다. Stark等²⁸⁾은 PEMF가 矯正的 齒牙移動에 미치는 影響에 대한 實驗에서 PEMF는 未分化細胞가 造骨細胞 혹은 破骨細胞로 分化하는데 必要한 信號이며 矯正力에 의한 壓電現象이 方向性을 賦與한다고 했다. Steffensen等⁸³⁾은 電磁氣刺戟이 齒周軟組織과 齒槽骨에 미치는 影響을 觀察하여 多少 肯定的인 結果를 얻었으나 電磁氣刺戟이 通常的인 齒周治療에 勸獎할 만한 程度의 效果를 보여주지 못했다고 했다. Hutchinson等⁸⁴⁾은 第3大白齒 拔去以後 脈動電磁氣 에너지를 利用하여 痛症 및 開口障礙 등의 解消 與否를 觀察하였으나 그 結果는 否定的이었다. 그러나 Barak等⁷⁰⁾은 下顎骨의 病理學的 骨骨折과 骨髓炎을 同伴한 放射線骨壞死 患者에게서 PEMF를 利用하여 成功的인 治療效果를 거둔 症例를 報告하였다.

III. 實驗材料 및 實驗方法

1) 脈動 電磁氣場

A. 臨床研究用 PEMF 發生裝置

實驗에 使用된 PEMF 發生裝置는 EBI (Eletro-Biology Inc., West Caldwell, New Jersey)에서 製作한 Stimetics 3000 (Fig. 2) 으로, 骨折 癒合의 臨床研究에 쓰이는 波形이 미리 固定되어 있고, 實驗에 의한 誤差를 除去하기 위해 裝置와 함께 供給된 coil pad 한쌍을 使用하였다. 誘導電位의 測定은 search coil probe (Fig. 4A)를 利用하여 oscilloscope (Gould digital oscilloscope, model 1604)上에서 記錄하였는데 誘導電位의 波形과 規格이 提示되어 있다 (Fig. 3).

B. 電磁氣場內 培養접시의 位置 選定

酵素活性和 콜라겐 合成 實驗時, Helmholtz coil사이의 誘導電位를 search coil probe로 測定하여 比較的 均一한 電氣場을 보이는 다섯部位를 選定하여 垂直으로 Petri dish를 쌓았으며, ^3H -thymidine 編入 實驗時에도 역시 均一한 電氣場의 影響을 받게하기

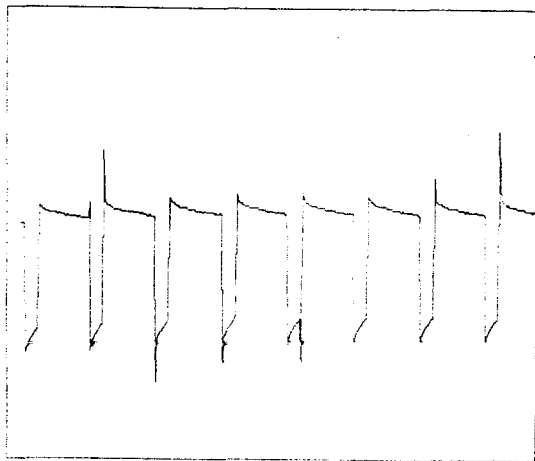


Fig. 3. A. Oscilloscopic trace of the voltage induced by PEMF generator used in the experiment. B. Diagram of the induced voltage measured at the center and in the middle of two coils.

위하여 coil內 여러 部位에서 search coil probe를 使用, 波高가 類似한 誘導電位 部位를 選定하여 實驗에 使用하였다.

C. Search coil probe의 製作方法

FDA에서 公認한 PEMF 波形의 測定에 使用된 search coil probe와 同一한 規格으로 製作하기 위하여 에나멜로 被覆된 #42gauge의 구리선을 內經 5mm가 되도록 62回 감아서 兩端子사이 470 Ω 의 shunt resistor를 連結하고 이들 端子를 直接 oscilloscope에 連結하여 誘導電位를 測定하였다 (Fig. 4A, B).

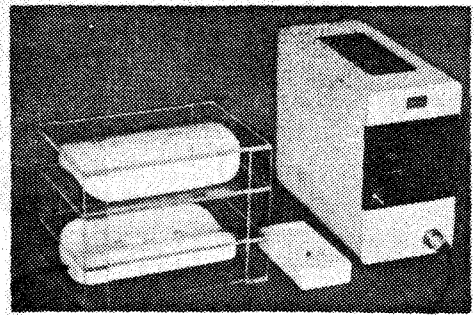
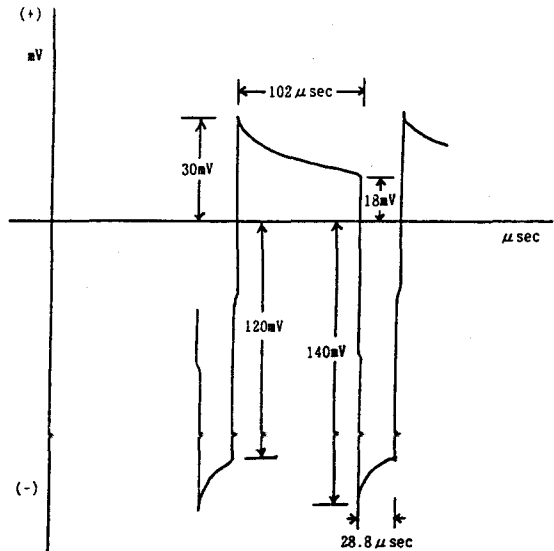


Fig. 2. PEMF generator and a pair of coils for clinical investigational use. (Stimetics 3000, Electro-Biology)



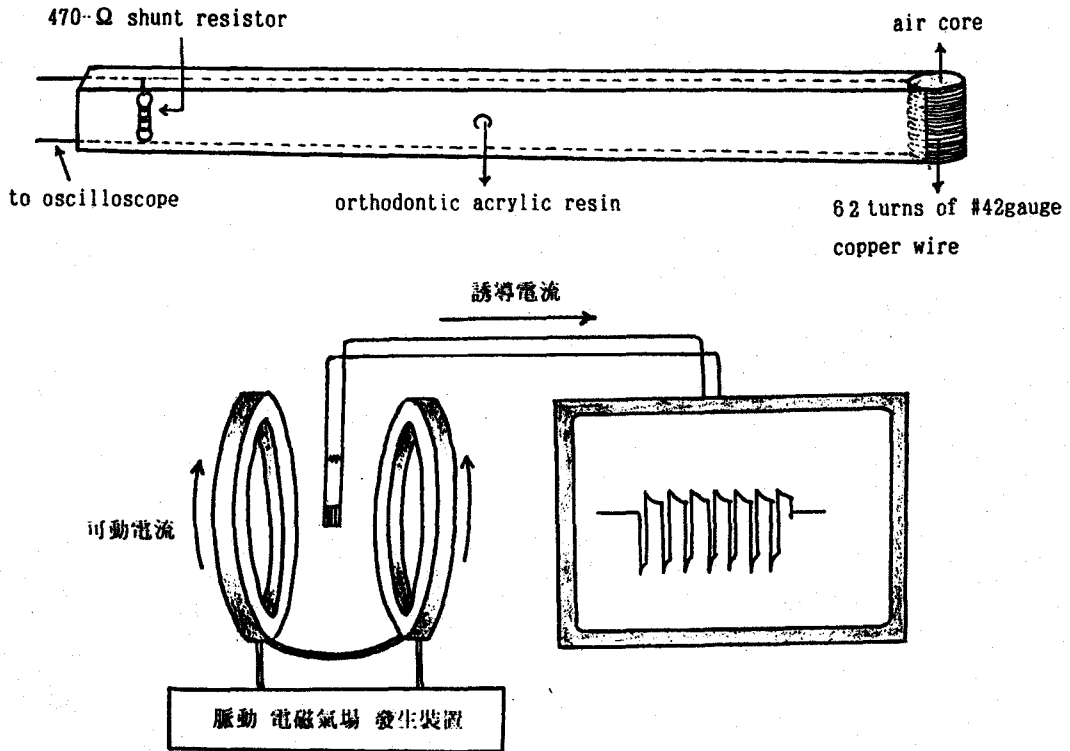


Fig. 4. A. Fabrication method of the search coil probe.
 B. The electrodes of the search coil probe are connected to the oscilloscope to measure the induced voltage.

2) 細胞培養 및 分析方法

A. 骨組織 細胞의 分離와 培養

胎生 19日째의 白鼠 胎子 頭蓋冠을 無菌的으로 摘出하고 1.5ml의 酵素溶液(0.1% collagenase, 0.05% trypsin, 0.5mM EDTA)이 들어있는 Reacti vial(Pierce, Rockford)內로 옮긴 후 37°C에서 서서히 攪拌하면서 10分間 處理하였다. 頭蓋冠에서 遊離된 骨組織 細胞는 酵素溶液에 同量의 fetal bovine serum(Gibco)을 添加하고 200×g로 5分間 遠沈하여 收集하였으며(I群), 酵素處理한 頭蓋冠은 다시 새로운 酵素溶液에 옮긴 後 같은 方法으로 10分(II群), 10分(III群), 20分(IV群), 20分(V群)間 連續處理하여 5群의 骨組織 細胞를 分離하였는데 I群側으로 갈수록 破骨細胞의 特性을 보이며 V群側으로 갈수록 造骨細胞의 特性

을 보인다. 이렇게 收集한 各 細胞群은 Hank's balanced salt solution(Gibco)으로 2回 洗滌하고 10% fetal bovine serum이 添加된 Minimum essential medium(Gibco)에 浮遊시킨 後 trypan blue로 染色하여 生細胞 計測(viability test)을 施行하고 60mm의 組織培養접시에 plating하여 처음 24時間 뒤, 그리고 그후 每 48時間마다 培養液을 交換하면서 7~8日間 培養하였다.

培養 後 0.05% trypsin과 0.5mM EDTA로 處理하여 收集한 細胞를 血球計算盤(hemocytometer)으로 細胞數를 測定하고 酵素活性 測定과 콜라겐 合成 百分率 測定을 위해 0.5~1.0×10⁶cells/35mm dish가 되도록 分株하였고, ³H-thymidine 編入測定을 위해 0.5~1.0×10⁵cell/dish well이 되도록 分株한 後 24時間동안 細胞를 dish 表面에 附着시켜 實驗에 使用하였다. 培養時 濕度는 95%, 溫度

는 37°C를 維持하면서 95%의 空氣와 5%의 炭酸가스를 繼續 供給하였다.

B. PEMF 適用下의 Alkaline Phosphatase의 測定

分離培養을 통해서 얻은 各細胞群은 對照群과 實驗群으로 나뉘며 實驗群에는 30分間 PEMF를 適用시켜서 培養하였다. 培養後 0.05% trypsin과 0.05mM EDTA로 處理하여 200×g로 5分間 遠沈하여 얻은 細胞群에 0.5ml의 蒸溜水를 加하고 ultrasonic dismembrator(Fisher)를 利用, 30秒間 超音波處理(sonication)하여 一部는 酵素活性 測定에, 一部는 蛋白質 定量에 使用하였다. Alkaline phosphatase의 活性 測定은 15mM p-nitrophenly phosphate를 基質로 使用하여, 0.1% Triton X-100/saline이 添加된 glycine NaOH buffer(pH 10.3)에서 37°C를 維持하며 30分 동안 作用시킨 後 基質로 부터 分解 遊離된 p-nitrophenol의 濃度を 比色定量하여 測定하였고(Bausch & Lomb, Spectronic 21), 對照群에 대한 分率로 計算하였다.

C. 副甲狀腺 호르몬과 PEMF 適用下의 Acid phosphatase의 測定

分離培養을 통해서 얻은 各細胞群의 對照群은 新鮮한 培養液으로 交換하였고 實驗群은 0.4U/ml 副甲狀腺 호르몬이 添加된 培養液으로 交換하여 한 實驗群에는 24時間 동안 副甲狀腺 호르몬만을, 다른 實驗群에는 副甲狀腺 호르몬과 PEMF를 함께 24時間 適用시켜 培養하였다. 培養後 alkaline phosphatase의 活性 測定과 同一한 方法으로 酵素溶液을 얻은 後 sodium citrate buffer(pH 4.8)를 利用하여 同一한 方法으로 酵素活性을 測定하였으며 對照群에 대한 分率로 計算하였다.

D. PEMF 適用下의 ³H-thymidine 編入의 測定

分離 培養을 통해 얻어진 細胞群에 ³H-thymidine 5μCi/ml(Amersham)을 包含하는 培養液으로 交換하고 2時間 培養하였으며 實驗

群은 마지막 15分間 PEMF를 適用하였다. 培養後 media를 除去하고 ice-cold 5%/TCA 1ml로 4°C에서 10分間 固定시킨 後 TCA를 除去하고 37°C에서 0.5M NaOH 0.2ml를 30分間 加한 다음 一部는 Liquid scintillation counter를 利用하여 ³H-thymidine 編入을 測定하였고(Beckman, LS 5000TA), 一部는 蛋白質 定量에 使用하였다.

E. PEMF 適用下의 콜라겐 合成 百分率의 測定

分離 培養을 통해 얻어진 細胞群에 30μCi ³H-proline을 添加하고 實驗群은 즉시 PEMF를 4時間 동안 適用하여 培養하였다. 培養後 培養液을 除去하고 0.05% trypsin과 0.5mM EDTA로 處理하여 200×g로 5分間 遠沈하여 얻은 細胞群에 0.5ml의 蒸溜水를 加하고 ultrasonic dismembrator(Fisher)를 利用, 30秒間 超音波處理하였다. 이렇게 얻은 試料를 Peterkofsky 等⁸⁵⁾의 方法에 따라 콜라겐 合成 百分率을 測定하여 對照群에 대한 分率로 計算하였다.

F. 蛋白質 定量

酵素活性 測定과 ³H-thymidine 編入 測定時 使用한 蛋白質 定量法은 bovine serum albumin을 標準溶液으로 使用하여 Lowry(1951)의 方法으로 定量하였다.

IV. 實驗成績

1. Alkaline phosphatase의 活性에 대한 PEMF의 影響

白鼠 胎子 頭蓋冠에서 連續酵素處理方法으로 얻은 骨組織 細胞群에 PEMF를 單獨으로 30分間 適用시킨 後 alkaline phosphatase의 活性을 測定하여 對照群에 대한 分率로 計算한 結果, 모든 細胞群에서 alkaline phosphatase 活性의 變化는 없었다(Table 1, Fig. 5).

Table 1. Effect of PEMF on alkaline phosphatase activities of calvarial cell populations

population	control	PEMF
I	1.00 ± 0.05	1.16 ± 0.03
II	1.00 ± 0.02	1.05 ± 0.04
III	1.00 ± 0.16	0.99 ± 0.08
IV	1.00 ± 0.01	0.93 ± 0.12
V	1.00 ± 0.03	0.99 ± 0.07

Values are Mean ± S.E. and expressed as the ratio of the alkaline phosphatase activities to corresponding mean activities of control group.

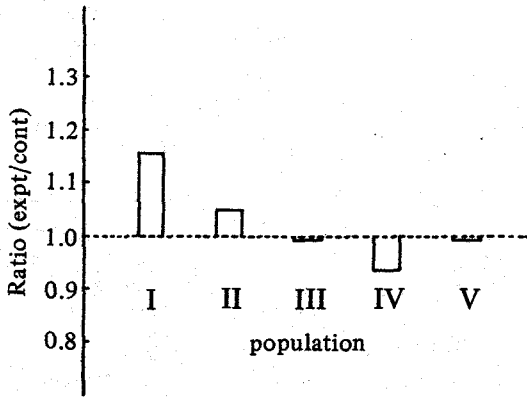


Fig. 5. Histogram of the effect of PEMF on alkaline phosphatase activities of calvarial cell populations.

2. Acid phosphatase의 활성에 대한 副甲狀腺 호르몬과 PEMF의 影響

0.4U/ml의 副甲狀腺 호르몬을 24時間 單獨으로 添加한 境遇와 副甲狀腺 호르몬과 함께 PEMF를 24時間 適用시킨 境遇 모두 對照群에 比하여 acid phosphatase 活性의 變動이 없었고, 副甲狀腺 호르몬을 添加한 實驗群과 副甲狀腺 호르몬과 함께 PEMF를 適用시킨 實驗群사이에서도 有意한 差異는 없었다 (Table 2, Fig. 6).

Table 2. Effect of PTH (0.4U/ml) and PEMF with PTH on acid phosphatase activities of calvarial cell populations.

population	control	PTH	PTH+PEMF
I	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	0.97 ± 0.01
II	1.00 ± 0.02	1.04 ± 0.01	0.99 ± 0.05
III	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.01	0.85 ± 0.16
IV	1.00 ± 0.01	1.22 ± 0.07	1.15 ± 0.03
V	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.01	0.99 ± 0.04

Values are Mean ± S.E. and expressed as the ratio of the acid phosphatase activities to corresponding mean activities of control group.

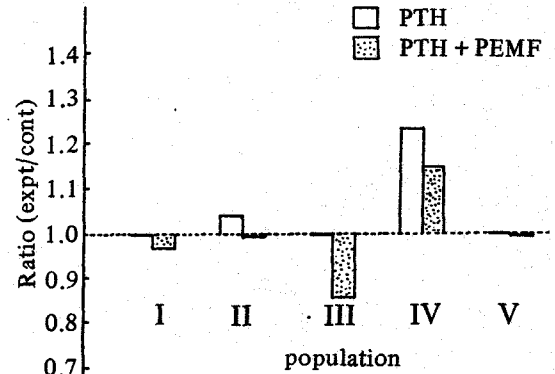


Fig. 6. Histogram of the effect of PTH (0.4 U/ml) and PEMF with PTH on acid phosphatase activities of calvarial cell populations.

3. 콜라겐 合成에 대한 PEMF의 影響

30μCi의 ³H-proline을 添加한 後 4時間 동안 PEMF를 함께 適用시키고 콜라겐의 合成 變化를 測定한 結果, PEMF를 適用시키지 않은 對照群에 比하여 全般的인 콜라겐 合成 增加傾向을 보였으며, V群에서 2.32 ± 0.16으로 有意한 增加를 보였다 (Table 3, Fig. 7).

Table 3. Effect of PEMF on percent synthesis of collagen of calvarial cell populations

population	control	PEMF
I	1.00 ± 0.26	1.14 ± 0.32
II	1.00 ± 0.27	1.03 ± 0.18
III	1.00 ± 0.17	1.22 ± 0.30
IV	1.00 ± 0.09	1.21 ± 0.08
V	1.00 ± 0.06	2.32 ± 0.16*

Values are Mean ± S.E. and expressed as the ratio of the percent synthesis of collagen to corresponding mean percent synthesis of collagen of control group.

* P < 0.05

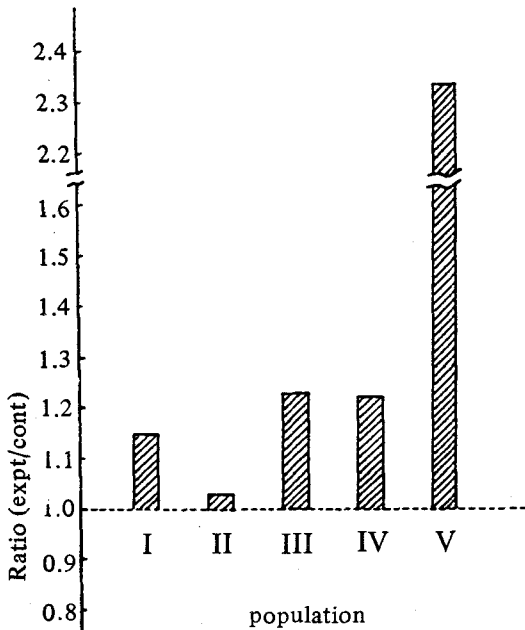


Fig. 7. Histogram of the effect of PEMF on percent synthesis of collagen of calvarial cell populations.

4. ^3H -thymidine의 編入에 대한 PEMF의 影響

$5\mu\text{Ci/ml}$ 의 ^3H -thymidine을 添加하고 2時 間 동안 培養하면서 이 期間中 마지막 15分間

PEMF를 適用시켰을 境遇, 全細胞群에서 ^3H -thymidine의 編入이 增加하는 傾向이 있었으며, IV群과 V群에서 有意한 增加를 보였다 (Table 4, Fig. 8).

Table 4. Effect of PEMF on ^3H -thymidine incorporation of calvarial cell populations.

population	control	PEMF
I	1.00 ± 0.10	1.05 ± 0.06
II	1.00 ± 0.16	1.24 ± 0.10
III	1.00 ± 0.24	1.05 ± 0.14
IV	1.00 ± 0.16	1.77 ± 0.10*
V	1.00 ± 0.10	1.78 ± 0.31*

Values are Mean ± S.E. and expressed as the ratio of the ^3H -thymidine incorporation to corresponding mean ^3H -thymidine incorporation of control group.

* P < 0.05

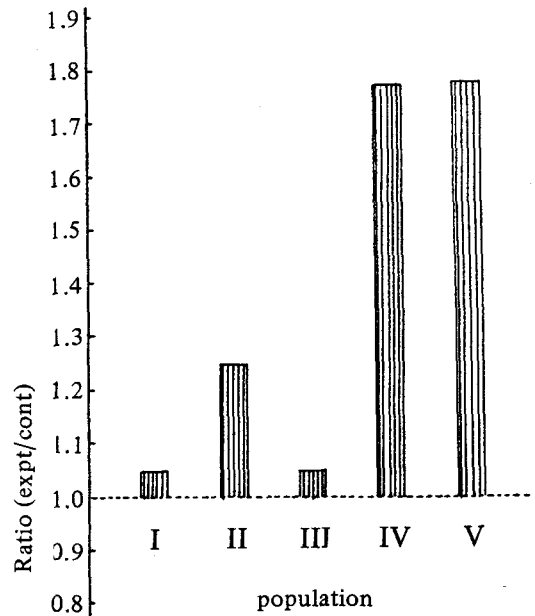


Fig. 8. Histogram of the effect of PEMF on ^3H -thymidine incorporation of calvarial cell populations.

V. 總括 및 考按

PEMF를 利用하는 實驗에서는 加動 電磁氣場(driving electromagnetic field)을 正確하게 決定지어야 하기도 하지만, 이를 둘러싸고 있는 다른 電磁氣的 周圍 環境을 排除시킨 實驗 環境의 維持가 重要하다. 實際, 培養器 周圍에 있는 電氣機器 等도 電磁氣場에 影響을 미칠 수 있다. 生物學的 反應을 決定하는 데에는 이 裝置에서 얻어지는 誘導電位가 重要하기 때문에, 細心한 注意를 기울여서 均一한 磁氣場을 얻어내야만 한다. 本 研究에서는 磁氣場에서 均一한 誘導電位를 얻기 위하여 FDA에서 公認한 PEMF波形 測定에 使用된 것과 같은 規格으로 製作한 search coil probe로 誘導電位를 測定하여 比較的 均一한 誘導電位를 나타내는 部位에 骨細胞 培養접시를 固定시켰다. 主로 實驗에 쓰여지는 PEMF는 電磁氣波中 1에서 100Hz에 이르는 아주 낮은 振動數 領域을 차지하는데 波形은 典型的으로 非對稱形에 復位相(biphasic)을 가지며 quasi-rectangular 이거나 quasi-triangular이며, 神經纖維나 筋纖維에 생기는 活動電位와 많이 차이가 나며, 家庭으로 供給되는 交流, 즉 sine wave와는 아주 다르다.

初期 段階의 研究에 使用한 PEMF는 慢性 骨折 不癒合 治療 實驗에 使用되었던 復位相이며, 非對稱形的 quasi-triangular였으나(Fig. 9), 發展된 波形은 quasi-rectangular 形을 復位相에 使用한 것과, quasi-rectangular를 한 位相(+)에, quasi-triangular를 다른 位相(-)에 採擇한 두가지인데, 이것은 現在 研究室과 臨床에서 널리 쓰이는 波形이다. 波의 形態와 頻度を 基準으로 現在 臨床에 두가지를 使用하고 있는데, 한가지는 21個의 小波를 가지는 15Hz의 集團波(pulse burst)이며, 다른 한가지는 65-74Hz의 單一波(single pulse)이다(Fig. 10). 以上の 두가지는 骨折 不癒合 및 失敗한 關節固定術과 先天性 假性關節症의 治療에 效果가 있는 것으로 1979年 FDA에서 公認한 波形이다.

便宜上 coil probe를 使用하여 測定된 波形을 quasi-triangular나 quasi-rectangular로 分類하기는 하지만 誘導電位가 發生되는 組織의 性質에 따라 波形이 다르게 나타나므로⁸⁶⁾ 波의 形態를 基準으로 그 生物學的 效率를 分類하는 것이 옳은 지는 再考의 餘地가 있으며, 組織이나 細胞에 대한 特異性을 먼저 糾明해야 할 것이다. 또한 波의 幅이나 振動數¹⁸⁾ 및 電磁氣場에 대한 露出方向⁸⁷⁾ 等の 考慮가 없이 電磁氣場의 強度만을 基準으로 삼는 것은 그 意味가 낮다고 하겠다. 마찬가지로 生物學的 側面에서도, 露出되는 細胞의 種類, 機能, 그리고 組織과 氣質 等에 대해 考慮하고 研究를 해야 하며 信賴性 있는 結果를 위해서는 物理學, 工學, 生物學 및 生化學 等の 綜合的인 專門知識이 要求된다.

PEMF의 生體組織에 대한 安全性에 관해서는 主로 胚子畸形發生(teratogenesis)과 惡性 腫瘍(malignancy)發生에 대해 舉論이 되고 있다^{78,80)}. FDA에서는 電磁氣 交亂을 理由로 人工嚮導잡이(pacemaker)를 使用하는 사람과 妊娠婦가 이 裝置를 使用하는 것을 禁止하고 있는데, 이것은 병아리 胚를 時間變換 磁氣場에 露出시킨 結果, 胚子畸形變化和 器官形成의 變化가 낮은 振動數의 PEMF 使用時 觀察되

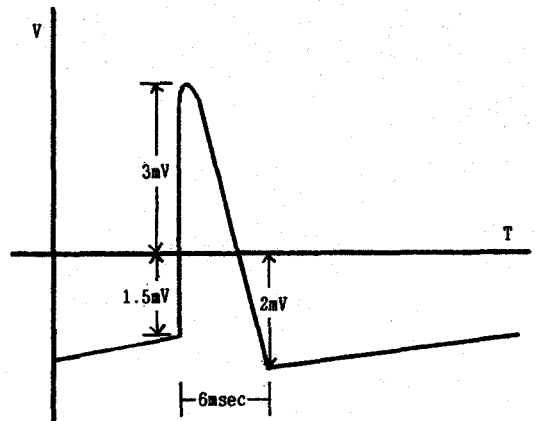


Fig. 9. Diagram of the voltage induced by the PEMFs used in initial bone healing studies from 1973 to 1974. These were asymmetric, quasi-triangular waveforms.

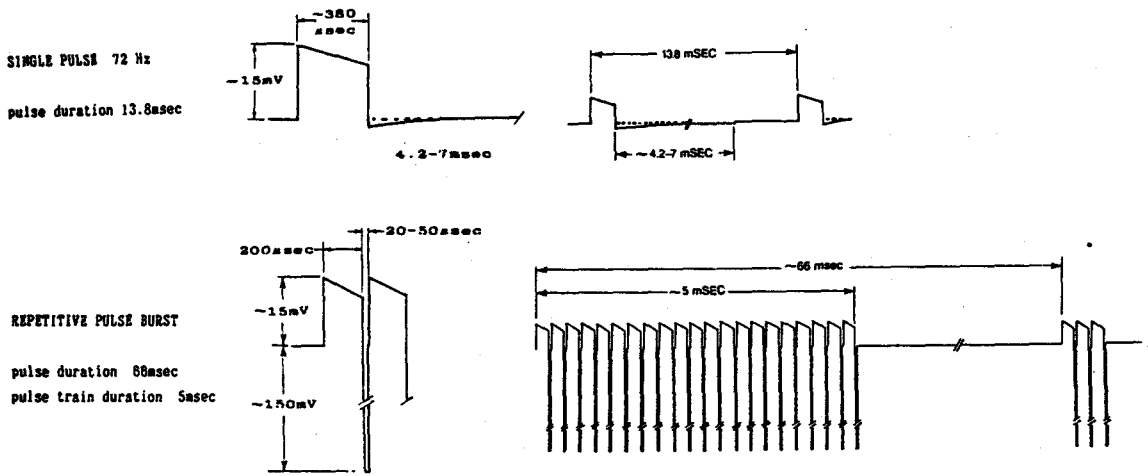


Fig. 10. Diagram of the two basic PEMF patterns approved by the FDA for clinical application.

있기 때문이며, 이러한 변화는 세포外的 glycosaminoglycan의 변화를 유도하여 생기는 결과라고 했다⁸⁰⁾. 惡性腫瘍에 관해서, 職業的으로 露出된 사람들에게서 白血病이 增加되는 傾向이 있다고 報告된 바 있으나⁸⁸⁾, Bassett⁸⁶⁾는 現在 사용되는 PEMF가 惡性腫瘍을 일으킨다는 事實을 認定할 수 없고, 오히려 어떤 境遇, 腫瘍成長을 抑制한다고 하였다. 惡性腫瘍 發生에 관해서는 相反된 主張이 있으며, 各 波形의 特異性이 細胞에 있다고 믿어지는 만큼, 惡性腫瘍 發生 可能性을 排除할 수 없다⁸⁹⁾.

骨組織 代謝에 관한 研究는 一般的으로 骨組織 培養을 利用하였는데 이 方法은 細胞水準에서 따로 分離하여 研究를 하기에는 어떤 限界를 가지고 있다. 例를 들면, 破骨細胞가 機能을 하기 위해서는 造骨細胞와의 作用이 必要하며, 그 以外的 細胞 乃至 組織內 生成物質等이 影響을 준다는 假設이 있어서⁹¹⁾, 원하는 細胞의 變化를 觀察하기 위해서는 다른 實驗的 方法이 要求되었다. 本 實驗에서는 各其 다른 骨組織 細胞群들(破骨細胞類似細胞群, 造骨細胞類似細胞群)이 PEMF와 副甲狀腺 호르몬에

反應하는 樣相과, 單獨으로 PEMF 適用 下에서 콜라겐 合成의 變化와 ³H-thymidine이 編入되는 程度를 測定하기 위하여 連續酵素處理 方法을 採擇하였다. 이 方法으로 分離한 骨細胞群이 純粹한 骨細胞群은 아니지만 여러가지 骨組織 代謝 研究를 위한 試驗管内 實驗으로 널리 使用되고 있다. 다섯群으로 分離되는 細胞群은 I群側으로 갈수록 破骨細胞의 特性을 보이며, V群側으로 갈수록 造骨細胞의 特性을 보이는데, 1989年 丁 等⁹²⁾의 研究에서는 alkaline phosphatase의 基礎濃度가 IV群과 V群에서 높게 나타났으며 副甲狀腺 호르몬 投與時 I群에서 acid phosphatase의 增加와 alkaline phosphatase의 活性低下가 觀察되었고 그 以外的 群에서는 뚜렷한 變化가 보이지 않았다고 했다.

Alkaline phosphatase는 벌써 數十年 前에 骨에서 發見되었고 그 機能에 대하여서, phosphotransferase로 作用하여 磷酸鹽의 運搬에 한 役割을 擔當하는 것 外에, 磷酸鹽 에스테르를 加水分解시켜서 無機磷酸鹽을 遊離하도록 하는데, 이로 因하여 局所 無機磷酸鹽의 含量을 높여서 鑛物이 沈澱되는 것을 促進시킨다

고 하며, 鑛化作用의 抑制物質인 피로磷酸鹽을 加水分解시킴으로써 鑛物의 沈澱이 進行되도록 해준다는 假設이 있으며 그 基質로서 有機 포 스포모노에스테르, 피로磷酸鹽, ATP 등을 가 지는 것으로 알려져 있다⁹³⁾. 造骨機能을 가 지는 細胞의 境遇 alkaline phosphatase의 活性 이 높으며, 破骨細胞의 境遇 acid phosphatase의 活性이 높는데 acid phosphatase는 比較的 活性 變動이 없는 酵素로 알려져 있다.

副甲狀腺 호르몬은 造骨細胞를 對象으로 作用하는 것으로 알려져 있으며 그 機能中에는 콜라겐 合成을 阻害하고 칼슘의 吸收를 增加 시키는 것 외에도 alkaline phosphatase의 活 性을 떨어뜨리는 것이 있다. 反面, 破骨細胞 가 副甲狀腺 호르몬에 대한 受容器를 가지거나 이에 直接的으로 反應하는 證據는 없는 것으로 보인다. 副甲狀腺 호르몬은 骨細胞의 透過性을 높여서 細胞內로 칼슘을 받아들인데 칼슘의 細胞外 放出에는 效果가 없는 것으로 알려져 있다. 副甲狀腺 호르몬은 骨細胞膜의 受容器와 結合하여 細胞膜 附着酵素인 adeny cyclase를 活性化시켜 ATP로 부터 cAMP를 生成하여 副甲狀腺 호르몬이 作用을 나타내며 細胞膜을 通해서 칼슘을 流入시키고 細胞質內 칼슘濃度 를 높이는데 칼슘과 cAMP 두가지의 增加는 細胞의 代謝 變化에 有關한 것으로 보인다.

本 研究에서는 첫번째로, 分離된 骨組織細胞 에서 PEMF가 單獨으로 alkaline phosphatase 의 活性에 미치는 影響을 觀察하고 두번째는, PEMF와 副甲狀腺 호르몬을 合하여 適用시켰 을 境遇에 나타나는 acid phosphatase의 活 性 變化, 그리고 마지막으로 PEMF가 콜라겐의 合成과 ³H-thymidine의 編入에 어떠한 影響 을 미치는지 알고자 했다. 一般的으로 造骨細胞 의 活性增加 時 alkaline phosphatase가 增加한다고 알려져 있으나 本 研究에서는 PEMF의 影響 下에서 變動이 없는 것으로 나 타났으며, PEMF에 의해 造骨細胞類似細胞群 인 V群側에서 alkaline phosphatase 活性度의 增加가 없는 것으로 보아 PEMF가 造骨細胞 의 酵素活性에 直接的인 影響을 주지는 못한다 고 생각되었다. 이것은 Yamada⁶⁸⁾의 研究 結

果와 一致하였으나 Schmitt⁶⁹⁾의 報告와는 差 異가 있었는데 그 理由로서, Schmitt는 患者 의 血清에서 測定하였기 때문에, 알려지지 않 은 많은 變數가 作用하여 酵素活性이 增加한 것으로 생각되었다. Stark 等²⁸⁾은 PEMF의 影響 下에서 齒牙移動量의 測定과 아울러 血液 의 化學的 分析을 한 結果, 齒牙移動은 增加되 었으나 alkaline phosphatase의 增加는 없었다 고 하였다.

丁 等⁹²⁾의 研究에 의하면 副甲狀腺 호르몬 投與 時 破骨細胞類似細胞群인 I群에서 acid phosphatase의 濃도가 多少 增加했다고 하였으 나 本 研究에서는 副甲狀腺 호르몬의 投與 時, 全 實驗細胞群에서 거의 變動이 없었으며 附加 의으로 PEMF와 함께 適用 時에도 變化가 없 었다. Cruess 等⁹⁰⁾이 PEMF가 骨多孔症에서 骨吸收를 減少시켰다고 한 것으로 보아, 萬一 PEMF가 破骨細胞를 通한 骨吸收를 抑制한다 고 假定했을 境遇, acid phosphatase의 減少 를 期待할 수 있었지만 本 實驗의 結果는 그렇 지 못하였으며 PEMF가 造骨細胞 및 破骨細胞 의 代表的인 酵素活性에 影響을 미친다고 생 각할 수 없었다. 副甲狀腺 호르몬의 投與 時, 丁 等⁹²⁾의 研究에서 처럼 I群에서 acid phosphatase의 濃도가 높아졌다면 副甲狀腺 호 르몬에 대한 PEMF의 適用 效果가 그 信賴性 에 있어서 意味가 더욱 크리라 생각되었다.

³H-proline을 利用한 콜라겐 合成 變化의 評價에서는 全般的인 增加 傾向이 있었으며 특 히 V群에서 有意한 增加를 보였는데 (p<0. 05) 이것은 骨基質形成과 關聯시켜볼 때 重要 한 意味를 가진다고 하겠다. ³H-proline의 編 入이 增加한 것은 콜라겐의 合成增加만을 意味 하지 않는 骨基質이 形成되는데 있어서 PEMF가 한 役割을 擔當한다고 생각할 수 있 었으며 非콜라겐性 蛋白質로의 ³H-proline의 編入이 增加한 것 自體도 細胞의 全般的인 活 性增加를 意味한다고 할 수 있을 것이다. 한편 ³H-thymidine의 編入 實驗에서도 全般的인 增加 傾向이 있었으며 특히 IV群과 V群에서 有意한 增加를 보여 (p<0.05) PEMF가 造骨 細胞類似細胞群에서 細胞의 增殖에 影響을 주

는 것으로 생각되었다. 骨形成은 骨基質의 生成 다음 石灰化가 進行되어 이루어지는데 이러한 直接的인 段階 外에 造骨細胞의 增殖도 骨形成에 影響을 준다고 볼 수 있으며 PEMF가 間接的으로 關與한다고 생각할 수 있었다.

本 研究에서 觀察한 바로는 齒科矯正學의 側面에서 큰 關心事인 造骨細胞의 骨形成 能力이 PEMF에 의하여 直接的으로 높아지지는 않았으나 骨基質의 形成이나 細胞의 增殖을 通한 間接的 影響을 주는 것으로 나타났으며 이 實驗에서 採擇된 波形이나 에너지와는 다른 PEMF를 選擇하여 進展된 研究를 할 必要가 있다고 생각되었다.

VI. 結 論

脈動 電磁氣場이 培養 骨組織細胞에 미치는 影響을 알아보기 위하여 胎生 19日째의 白鼠 胎子 頭蓋冠을 摘出, 連續酵素處理方法에 의하여 骨組織細胞를 다섯群으로 分離 培養한 後 脈動 電磁氣場의 影響下에서 酵素活性的 變化, 콜라겐 合成의 變化 및 ^3H -thymidine 編入量의 變化를 觀察하여 다음의 結論을 얻었다.

1. 培養 骨組織細胞群에 單獨으로 脈動 電磁氣場을 適用시켰을 境遇 alkaline phosphatase 活性的 變化는 거의 없었다.

2. 培養 骨組織細胞群에 副甲狀腺 호르몬을 單獨으로, 혹은 脈動 電磁氣場과 同時에 適用시켰을 境遇 全 實驗細胞群에서 acid phosphatase 活性的 變化는 거의 없었으며, 두 實驗群 사이에서도 有意한 差異는 없었다.

3. 脈動 電磁氣場의 影響下에서 骨組織細胞群을 培養한 境遇 콜라겐 合成量은 V群에서 有意한 增加를 보였다.

4. 脈動 電磁氣場의 影響下에서 骨組織細胞群을 培養한 境遇 DNA로의 ^3H -thymidine의 編入이 增加하는 傾向이 있었으며 IV群과 V群에서 有意한 增加를 보였다.

REFERENCES

1. Mostafa, Y.A., Weeks-Dybvig, M. and Osdo-by, P., Orchestration of tooth movement, *Am. J. Orthod.*, 83; 3:245-250, 1983.
2. Storey, Elsdon., The nature of orthodontic tooth movement, *Am. J. Orthod.*, 63:292-314, 1973.
3. Cain, C.D., Adey, W.R. and Luben, R.A., Evidence that pulsed electromagnetic fields inhibit coupling of adenyl cyclase by parathyroid hormone in bone cells, *Journal of bone and mineral research*, 2; 5:437-441, 1987.
4. 강봉기 : Prostaglandin E_2 가 백서의 치아 이동시 치조골 흡수에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, *대치교지*, 13; 2: 147-155, 1983.
5. Yamasaki, K.L., Schibata, Y., Imai, S., Tani, Y., Schbasaki, Y. and Fukuhara, T., Clinical application of prostaglandin E_1 (PGE_1) upon orthodontic tooth movement, *Am. J. Orthod.*, 85; 6:508-518, 1984.
6. Yamasaki, K.L., The role of cyclic AMP, calcium, and prostaglandins in the induction of osteoclastic bone resorption associated with experimental tooth movement, *J. Dent. Res.*, 62; 8:877-881, 1983.
7. Yamasaki, K.L., Schbata, Y. and Fukuhara, T., The effect of prostaglandins on experimental tooth movement in monkeys, *J. Dent. Res.*, 61; 12:1444-1446, 1982.
8. Norton, L.A., Implications of bioelectric growth control in orthodontics and dentistry, *Angle Orthod.*, 45; 1:34-42, 1975.
9. Davidovitch, Z., Finkelson, M.D., Steigman, S., Shanfeld, J.L., Montgomery, P.C. and Korostoff, E., Electric currents, bone remodelling and orthodontic tooth move-

- ment: I. The effect of electric currents on periodontal cyclic nucleotides. *Am. J. Orthod.*, 77:14-32, 1980.
10. Davidovitch, Z., Finkelson, M.D., Steigman, S., Shanfeld, J.L., Montgomery, P.C. and Korostoff, E., Electric currents, bone remodelling and orthodontic tooth movement: II. Increase in rate of tooth movement and periodontal cyclic nucleotide levels by combined force and electric current, *Am. J. Orthod.*, 77:33-47, 1980.
 11. 김영복, 양원식, 이종훈 : 외인성 전류가 고양이 치조골의 cyclic nucleotides에 미치는 영향에 관한 연구, *대치교지*, 14 : 187-202, 1984.
 12. Saccaro, R. Electrical stimulation and tooth movement, *NYS Dental J.*, 167-169, March, 1983.
 13. 김종태, 양원식, 김중수 : 교정력 및 외인성 전류가 고양이 치조골의 prostaglandin E₂에 미치는 影響에 관한 연구, *대치교지*, 14 : 203-215, 1984.
 14. Beeson, D.C., Johnston, L.E. and Wisotzky, J., Effect of constant direct current on orthodontic tooth movement in the cat, *J. Dent. Res.*, 54;2:251-254, 1975.
 15. Davidovitch, Z., Shanfeld, L., Montgomery, P.C., Lally, E., Laster, L., Furst, L. and Korostoff, E., Biochemical mediators of the effects of mechanical forces and electric currents on mineralized tissues, *Calif. Tissue Int.*, 36:S86-S97, 1984.
 16. Zengo, A.N., Pawluk, R.J. and Bassett, C.A.L., Stress-induced bioelectric potentials in the dentoalveolar complex, *Am. J. Orthod.*, 64; 1:17-27, 1973.
 17. Zengo, A.N., Bassett, C.A.L., Pawluk, R.J. and Prountzos, G., In vivo bioelectric potentials in the dentoalveolar complex, *Am. J. Orthod.*, 66;2:130-139, 1974.
 18. Yasuda, I., Fundamental aspects of fracture treatment, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 124: 5-8, 1977.
 19. Brighton, C.T., Friedenber, Z.B., Mitchell, E.I. and Booth, R.E., Treatment of non-union with constant direct current, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 124:106-123, 1977.
 20. 유명철, 배대경, 김종관, 안용성., 전기자극법을 이용한 장관골 불유합의 치료, *대한정형외과학회지* 18 : 6 : 1177-1182, 1983.
 21. Norton, L.A., Hansley, K.J. and Turkewics, J., Bioelectric perturbations of bone, *Angle Orthod.*, 54;1:73-87, 1984.
 22. Bassett, C.A.L., Pulsing electromagnetic fields: A new method to modify cell behavior in calcified and noncalcified tissues, *Calcif. Tissue Inter.*, 34:1-8, 1982.
 23. Bassett, C.A.L., Valdes, M.G. and Hernandez, E., Modification of fracture repair with selected pulsing electromagnetic fields. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 64-A;6:888-895, 1982.
 24. Norton, L.A., Effects of pulsed electromagnetic field on a mixed chondroblastic tissue culture, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 167:280-290, 1982.
 25. Smith, R.L. and Nagel, D.O., Effects of pulsing electromagnetic fields on bone growth and articular cartilage, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 181:277-282, 1983.
 26. 양상덕, 서정훈 : Galvani 전류가 백서의 하악골 성장에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, *대치교지*, 18 ; 1 : 189-205, 1988.
 27. Gerling, J.A., Sinclair, P.M. and Roa, R.L., The effect of electromagnetic fields on condylar growth in guinea pig, *Am. J. Orthod.*, 87:211-223, 1985.
 28. Stark, T.M. and Sinclair, P.M., Effect of pulsed electromagnetic fields on orthodontic

- tooth movement, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 91; 2:91-104, 1987.
29. Fukada, E. and Yasuda, I., On the piezoelectric effect of bone, *J. Phys. Soc. Jpn.*, 12:1158-1160, 1957.
 30. Shamos, M.H. and Lavine, L.S., Piezoelectric effect in bone, *Nature*: 81;4862, 1963.
 31. Bassett, C.A.L. and Becker, R.O., Generation of electric potentials in bone in response to mechanical stress, *Science*, 137: 1063-1064, 1962.
 32. Bassett, C.A.L., Pawluk, R.J. and Becker, R.O., Effects of electric currents on bone in vivo, *Nature*, 204:652-654, 1964.
 33. Petersson, C.J. Holmer, N.G. and Johnell, O., Electrical stimulation of osteogenesis: studies of the cathode effect on rabbit femur, *Acta Orthop. Scand.*, 53:727-732, 1982.
 34. Steinberg, M.E., Bosch, A. and Schwan, A., Electrical potentials in stressed bone, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 61:294-299, 1968.
 35. Tzukert, A., Leviner, E., Mahler, Y. and Schoshan, S., Electroconductivity of bone in vitro and in vivo, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 179:270-274, 1983.
 36. Chakkalakal, D.A. and Johnson, M.W., Electrical properties of compact bone, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 161:133-145, 1981.
 37. Friedenber, Z.B., Andrews, E.T., Smokenski, B.I., Pearl, B.W. and Brighton, C.T., Bone reaction to varying amount of direct current, *Surg. Gynecol. Obst.*, 131:894-899, 1970.
 38. Brighton, C.T., Friedenber, Z.B., Black, J., Esterhai, Jr. J.L., Mitchell, J.E.I. and Montique, Jr. F., Electrically induced osteogenesis: Relationship between charge, current density, and the amount of bone formed: introduction of a new cathode concept, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 161: 122-132, 1981.
 39. Yasuda, I., Electrical callus and callus formation by electret, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 124:53-56, 1977.
 40. Inoue, S., Ohaschi, T., Yasuda, I. and Fukuda, E., Electret induced callus formation in the rat, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 124:57-58, 1977.
 41. Noda, M. and Sato, A., Appearance of osteoclasts and osteoblasts in electrically stimulated bones cultured on chorioallantoic membranes, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 193:288-298, 1985.
 42. Norton, L.A. and Moore, R.R., Bone growth in organ culture modified by an electric field, *J. Dent. Res.*, 51;5:1491-1499, 1972.
 43. Cochran, G.V.B., Pawluk, R.J. and Bassett, C.A.L., Electromechanical characteristics of bone under physiological moisture conditions, *Clin. Orthop.*, 58:249, 1968.
 44. Gillooly, C.J., Hosley, R.T., Mathews, J.R. and Jewett, D.L., Electric potentials recorded from the mandibular alveolar bone as a result of forces applied to the tooth, *Am. J. Orthod.*, 54:649-654, 1968.
 45. Kopczyk, R.A. and Norton, L.A. and Kohn, M.W., Bioelectric regeneration of bone in periodontal defect, *J. Dent. Res.*, 54: 914, 1975.
 46. Jacobs, J.D. and Norton, L.A., Electrical stimulation of osteogenesis in periodontal defects, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 124:41-52, 1977.
 47. Masureik, C. and Erikson, C., Preliminary clinical evaluation of the effect of small electrical currents on the healing of jaw fractures, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*,

- 124:84-91, 1977.
48. Davidovitch, Z., Steigman, S., Finkelson, M.D., Yost, R.W., Montgomery, P.C., Shanfeld, J.L. and Korostoff, E., Immunohistochemical evidence that electric currents increase periosteal cell cyclic nucleotide levels in feline alveolar bone in vivo, *Arch. Oral Biol.*, 25:321-327, 1980.
 49. Noda, M. and Sato, A., Calcification of cartilagenous matrix in culture by constant direct-current stimulation, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 193:281-287, 1985.
 50. Raphael, C.L., Jefferey, B.R., Kathleen, M.K., Darryl, S.W. and Martin, B.M., A comparison of in vitro cellular responses to mechanical and electrical stimulation, *The American Surgeon*, 48;11:567-574, 1982.
 51. Norton, L.A., Rodan, G.A. and Bourret, L.A., Epiphyseal cartilage cAMP changes produced by electrical and mechanical perturbations, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 124:59-68, 1977.
 52. Rodan, G.A., Mechanical and electrical effects on bone and cartilage cells: Translation of the physical signal into a biologic message. In *Orthodontics: The State of the Art*, Barrer, H.G. (ed.), Univ. of Pennsylvania Press, Philadelphia, P.A. 1981.
 53. Bassett, C.A.L., Biologic significance of piezoelectricity, *Calcif. Tissue Res.*, 1: 252-272, 1968.
 54. Bassett, C.A.L. and Herrmann, I., The effect of electrostatic fields on macromolecular synthesis by fibroblasts in vitro, *J. Cell Biol.* 39:9a, 1968.
 55. Bassett, C.A.L., Pawluk, R.J. and Pilla, A.A., Acceleration of fracture repair by electromagnetic fields. A surgically non-invasive method, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 238:242-261, 1974.
 56. Bassett, C.A.L., Pilla, A.L. and Pawluk, R.J., A non-operative salvage of surgically-resistant pseudoarthroses and non-unions by pulsing electromagnetic fields, *Clin. Orthop.*, 124:128-145, 1977.
 57. Sedel, L., Christel, P., Duriez, J., Duriez, R., Ennard, J., Ficat, C., Cauchoix, J. and Witvoet, J., Results of nonunions treatment by pulsed electromagnetic field stimulation, *Acta Orthop. Scand.*, (Suppl) 196:81-91, 1982.
 58. Heckman, J.D., Ingram, A.J., Loyd, R.D., Luck, J.V., Jr. and Mayer, P.W., Nonunion treatment with pulsed electromagnetic fields, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 161: 58-66, 1981.
 59. Kort, J.S., Schink, M.M., Mitchell, S.N. and Bassett, C.A.L., Congenital pseudoarthrosis of the tibia: Treatment of pulsing electromagnetic fields (The international experience), *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 165: 124-137, 1982.
 60. Sutcliffe, M.L. and Goldberg, A.A.J., The treatment of congenital pseudoarthrosis of the tibia with pulsing electromagnetic fields *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 166:45-57, 1982.
 61. Downes, E.M. and Watson, J., Development of the iron-cored electromagnet for the treatment of non-union and delayed union, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 66-B;5:754-759, 1984.
 62. De Haas, W.G., Watson, J. and Morrison, D.M., Non-invasive treatment of ununited fractures of the tibia using electrical stimulation, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 62-B;4:465-470, 1980.
 63. Schmit, O., The influence of the electromagnetic field on the activity of alkaline

- phosphatase in immobilised children, *Arch. Orthop. Traumat. Surg.*, 93:21-24, 1978.
64. A conversation with C.A.L. Bassett, M.D.: Pulsed electromagnetic fields, a non-invasive therapeutic modality for fracture nonunion., *Orthopaedic Review*, Vol. XV, No. 12, December 781/55-795/69, 1986.
 65. Peters, W.J., Jackson, R.W. and Iwano, K., Effect of controlled electromagnetic radiation on the growth of cells in tissue culture, *Journal of Surgical Research*, 27:8-13, 1979.
 66. Rooze, M.A. and Hinsenkamp, M.G., Histochemical modifications induced (in vitro) by electromagnetic stimulation of growing bone tissues, *Acta Orthop. Scand.*, (Suppl) 196:51-62, 1982.
 67. Hinsenkamp, M.G. and Rooze, M.A., Morphological effect of electromagnetic stimulation on the skeleton of fetal or newborn mice, *Acta Orthop. Scand.*, (Suppl) 196: 39-50, 1982.
 68. Yamada, S., Guenther, H.L. and Fleish, H., The effect of pulsed electromagnetic fields on bone cell metabolism and calvaria resorption in vitro, and on calcium metabolism in live rat, *International Orthopaedics*, 9: 129-134, 1985.
 69. Shteyer, A., Norton, L.A. and Rodan, G.A., Electromagnetically induced DNA synthesis in calvaria cells, *J. Dent. Res.*, 59 Suppl. A:362, 1979.
 70. Barak, S., Rosenblum, I., Czerniak, P. and Arieli, J., Treatment of osteoradionecrosis combined with pathologic fracture and osteomyelitis of the mandible with electromagnetic stimulation, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 17:253-256, 1988.
 71. Bassett, C.A.L., Mitchell, S.N. and Gaston, S.R., Treatment of ununited tibial diaphyseal fractures with pulsing electromagnetic fields, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 63;4:511-523, 1981.
 72. Siarrard, W.J.W., Sutcliffe, M.L. Robson, M.J. and Maseachern, A.G., The treatment of fibrous non-union of fractures by pulsing electromagnetic stimulation, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 64-B;2:189-193, 1982.
 73. Hinsenkamp, M.G., Treatment of non-unions by electromagnetic stimulation, *Acta Orthop. Scand.*, (Suppl) 196:63-79, 1982.
 74. Frykman, G.K., Taleisnik, J., Peters, G., Kaufman, R., Helal, B., Wood, V.E. and Unsell, R.S., Treatment of nonunited scaphoid fractures by pulsed electromagnetic field and cast, *The Journal of Hand Surgery*, 11A;3:344-349, 1986.
 75. Bassett, C.A.L., Mitchell, S.N. and Gaston, S.R., Pulsing electromagnetic field treatment in ununited fractures and failed arthrodeses, *JAMA*, 247;5:623-628, 1982.
 76. Elliot, J.P., Smith, R.L. and Block, C.A., Time-varying magnetic fields: Effects of orientation on chondrocyte proliferation, *J. Orthop. Res.*, 6;2:259-264, 1988.
 77. Iannacone, W.M., Pienkowski, D., Pollack, S.R. and Brighton, C.T., Pulsing electromagnetic field stimulation of the in vitro growth plate, *J. Orthop. Res.*, 6;2:239-247, 1988.
 78. Ubeda, A., Leal, J., Trillo, M.A., Jimenez, M.A. and Delgado, J.M.R., Pulse shape of magnetic fields influences chick embryogenesis, *J. Anat.*, 137;3:513-536, 1983.
 79. Enzler, M.A., Summer-Smith, G., Waelchli-Suter, C. and Perren, S.M., Treatment of non-uniting osteotomies with pulsating electromagnetic fields, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 187:272-276, 1984.
 80. Delgado, J.M.R., Leal, J., Monteagudo, J.L.

- and Gracia, M.G., Embryological changes induced by weak, extremely low frequency electromagnetic fields, *J. Anat.*, 134;3: 533-551, 1982.
81. Rodan, G.A., Bourret, L.A. and Norton, L.A., DNA synthesis in cartilage cells is stimulated by oscillating electric fields, *Science*, 199;10:690-692, 1978.
 82. Miller, G.J., Burchardt, H., Enneking, W.F. and Tylkowsky, C.M., Electromagnetic stimulation of canine bone grafts, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 66-A;5:693-698, 1984.
 83. Steffensen, B., Caffesse, R.G., Hanks, C.T., Avery, J.K. and Wright, N., Clinical effects of electromagnetic stimulation as an adjunct to periodontal therapy, *J. Periodontol.*, 59;1:46-52, 1988.
 84. Hutchinson, D., Witt, S. and Fairpo, C.G., Pulsed electromagnetic energy therapy in third molar surgery, *Oral Surg.*, 46;6:748-754, 1978.
 85. Peterkofsky, B., Chojkier, M. and Bateman, J., Determination of collagen synthesis in tissue and cell culture system, in *Immunochemistry of the extracellular matrix*. Vol. II, 19-47, edited by Furthmayr, H., CRC Press, Boca Raton, Florida, 1982.
 86. Bassett, C.A.L., Fundamental and practical aspects of therapeutic uses of pulsed electromagnetic fields (PEMFs), *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 17;5:451-529, 1989.
 87. Elliott, J.P., Smith, R.L. and Block, C.A., Time-varying magnetic fields: effects of orientation on chondrocyte proliferation, *J. Orthop. Res.*, 6;2:259-264, 1988.
 88. Savitz, D.A. and Calle, E.E., Leukemia and occupational exposure to electromagnetic fields: review of epidemiologic surveys, *Journal of occupational medicine*, 29;1: 47-51, 1987.
 89. Bärregard, L., Jarvhölm, B. and Ungethüm, E., Cancer among workers exposed to strong static magnetic fields, *The Lancet*, 19;2. (8460) 892, 1985.
 90. Cruess, R.L., Kan, K. and Bassett, C.A.L., The effect of pulsing electromagnetic fields upon bone metabolism in an experimental model of disuse osteoporosis, *Clin. Orthop.*, 173:245-250, 1983.
 91. Rodan, G.A. and Martin, T.J., Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption - A hypothesis, *Calcif. Tissue Inter.*, 33:349-351, 1981.
 92. 정동균, 고재승, 김관식, 김각균, 민병무, 김세원 : 골흡수 기전에 관한 연구 : 파골세포의 활성화 기전, *대한구강생물학회지*, 13 : 1 : 5-23, 1989.
 93. Messer, H.H., Bone cell membranes, in <Section III, Basic science and pathology>, *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, 166:256-276, 1982.

– ABSTRACT –

THE EFFECT OF PULSED ELECTROMAGNETIC FIELD ON THE CULTURED CALVARIAL CELLS OF RAT

Byung Taek Choi, D.D.S., M.S.D. Won Sik Yang, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Dept. of Orthodontics, College of Dentistry, Seoul National University

Electrical stimulation among several factors that influence bone remodeling has been studied by many investigators with great enthusiasm in orthodontic field. The action mechanisms of Pulsed Electromagnetic Field (PEMF) are different from those of the conventional electrode application method in that PEMF induces endogenous current in the living tissues. PEMF is known to have the healing effect in nonunion of bone and osteoporosis. It is widely used in orthopaedic scopes and the possibility of using the method in clinical orthodontics is also conceivable. But the exact mechanisms by which the PEMF exerts its effects are not clearly understood. Therefore, the author wanted to see the effect of PEMF on five groups of rat calvarial cells obtained by sequential enzyme digestion method, and observed the changes in enzyme activation, collagen synthesis and ^3H -thymidine incorporation.

The results were as follows:

1. Under the effect of PEMF, there were no changes in the alkaline phosphatase activity in five groups of cell populations.
2. Both the PEMF group and the PTH with PEMF group showed no changes in acid phosphatase activities and there were no differences between two experimental groups.
3. Under the effect of PEMF, there was significant increase of collagen synthesis in the group V cell population.
4. Under the effect of PEMF, there were significant increases of ^3H -thymidine incorporation in the group IV and V cell populations.

Key Words: Pulsed electromagnetic field, Electrical stimulation, Enzyme activity, Matrix formation, Replication.