희토류 자석의 자성이 골모세포 성장인자 수용체의 증가에 미치는 영향에 관한 연구

경희대학교 치과대학 치과보철학교실

이상민·이성복·최부병

Effect of the magnetism(neodymium magnet) on growth factor receptors of osteoblasts

Sang-Min Lee, Sung-Bok Lee, Boo-Byung Choi

Department of Prosthodontics, Division of Dentistry, Graduated School, Kyung Hee University

The purposes of this study were to find out the optimum intensity of magnetic field where magnetism could promote the activity of osteoblast, and to discover the possibility of clinical application in the areas of dental implants and bone grafts by confirming the effect of clinically increasing bone formation. In this experiment, we used the Neodymium magnet, which had magnetic power six times as strong as the current ones and enabled the resistances against the demagnetization up to 20 to 50 times to be minimized with the size of 1mm in sight. In order to culture cells, a specially designed device was used. It was made to adjust the distance and accordingly to control the intensity of the magnetic field, by placing the cell culture plate in the center with a magnet of 1mm long and thick installed on the both ends. Using MC3T3-E1 cell, a kind of osteoblast-like cell, we cultured, for 24 hours, not only the test group which had been cultured under the magnetic fields with different intensity of 5, 10, 50, 100, 500, and 1000 Gauss, but also the control group excluding the influences of the magnetic field. After observing the cell's form and the density of the culture medium through an inverted microscope, we made a series of proceedings needed for the immunofluoroscence staining, such as fixation, normal serum reaction, primary antibody reaction, and secondary antibody reaction. And with a fluorescence microscope, we observed those-above and compared the frequency of expression of IFG-1 receptor. To make a Western immunoblotting analysis, the cells cultured under the same condition as the above had the procedure of the lysis buffer and the acrylamide gel electrophoresis was carried out. Protein transferred into the nitrocellulose membrane and tested on the primary and the secondary antibody reactions was observed and compared. The results were as follows: When observed through an inverted microscope, the nuclear divisions of the cells under the magnetic field of 10 Gauss were the most active, and the density of the cells could be observed the most enormously. As the result of an immunofluoroscence staining of IGF-1 receptor, the expression of IFG-1 was the most frequently observed under the magnetic field of 10 Gauss. On the other hand, few differences of consideration were made between the test group cultured under the magnetic fields of 5, 500, and 1000 Gauss and the control group. In respect of the expression of IFG-1 receptor, the test group cultured under the magnetic fields of 50 and 100 Gauss were higher than the control group, and lower than that cultured under the magnetic field of 10 Gauss.($p<0.05$) According to the Western immunoblotting analysis, the band of IFG-1 receptor which had 85KDa of molecular weight was the darkest. Judging from the above-mentioned results, the growth factor receptor of an osteoblast cell which was an important criterion for the bone formation was increased in maximum under the magnetic field of 10 Gauss. Moreover it was observed that the optimum intensity of magnetic field in which magnetism made the activity of the osteoblast cell increase was about 10 Gauss.

희토류 자석의 자성이 골모세포 성장인자 수용체의 증가에 미치는 영향에 관한 연구

경희대학교 치과대학 치과보철학교실

이상민·이성복·최부병

Ⅰ. 서 론

전자기장의 생물학적 영향에 관한 연구는 1957년 Yasuda[1]의 골에 대한 piezoelectric effect에 관한 연구를 시작으로 전자기장이 골에 미치는 영향에 관한 연구[2-7], 특히 파절된 골에 있어서의 골 치유를 위한 비침습적인 방법으로 연구가 진행되었다[8-9]. 1988년 Rabby 등은 유도 전자기장이 골 형성을 촉진하며 골 손상의 치유에 효과적임을 증명하였다[10].

치과 분야에서는 전자기장이 임플란트 주위의 골형성 및 성장에 미치는 영향에 관한 다수의 연구가 행해지고 있는데[11-13], 이는 치과 임플란트의 골유착 기간을 단축시키고자 하는 것에 연구의 초점이 맞추어져 있음을 의미한다.

치의학에서 사용되는 자석에는 과거에 Alnico (Al-Ni-Co), Ferrite, Pt-Co 자석 등이 보철물에 사용되다가 이보다 훨씬 강한 자력을 소유하면서도 쉽게 자성을 잃지 않는 Sm-Co자석과 Neodymium 자석 같은 희토류 자석이 1970년대에 발견되어 점차 그 사용이 증가하게 되었다[14-16].

본 연구에서는 자성이 골모세포의 활성도를 증가시키는 최적의 자장의 세기를 알아내어 구강내 임플란트나 골이식술 분야에 있어서 임상적 응용 가능성을 알아보고자 하였다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 희토류 자석(Neodymium magnet)

기존의 치과용 자석보다 6배정도 강한 자력을 지니고 비자기화에 대한 저항성이 20-50배까지 커서 1mm이내의 크기로 축소 제작이 가능한 희토류 자석인 Neodymium magnet을 이용하였다.

2. 실험장치의 고안 및 제작

세포 배양판을 중앙에 위치시키고 양쪽에 자석을 반경10mm, 두께1mm의 원판형으로 제작, 부착시켜 거리를 조절함으로써 자장의 세기를 조절할 수 있도록 특별히 고안된 장치를 세포배양에 이용하였다.

3. 자장 하에서의 세포 배양

골모유사세포인 MC3T3-E1세포를 이용하여 직경 35mm 세포배양판(Falcon, USA) 7개에 10^6/ml의 세포농도로 각각 2ml씩 분주하였다. 10% Fetal Bovine Serum(FBS; Gibco, USA)과 Penicillin(100unit/ml)-Streptomycin(100μg/ml) (Gibco, USA)이 포함된 α-Minimum Essential Medium(α-MEM; Gibco, USA)용액을 배양액으로 하여 자장의 영향을 배제한 대조군과 각기 다른 세기의 자장인 5, 10, 50, 100, 500, 1000 Gauss의 자장 하에서의 실험군을 24시간 배양하였다.

4. 역광 현미경 (inverted microscope) 관찰

각기 다른 세기의 자장 하에서 세포를 24시간 동안 배양한 후, 역광현미경으로 배지의 세포 형태와 밀집도를 관찰하였다.

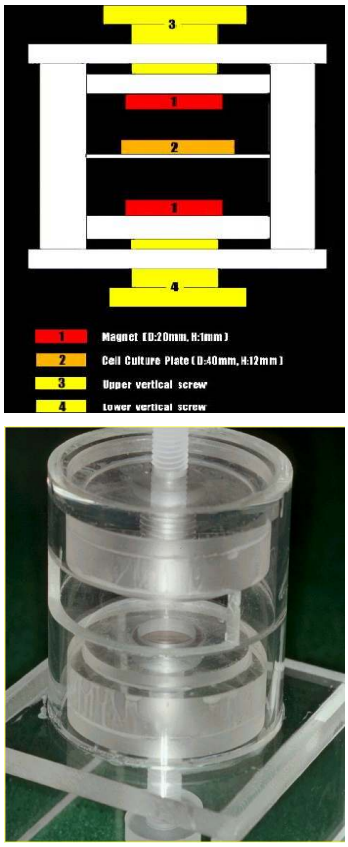


Fig. 1. magnetic field controller for cell culture



Fig. 2. Gauss meter (Kanetec, Japan)

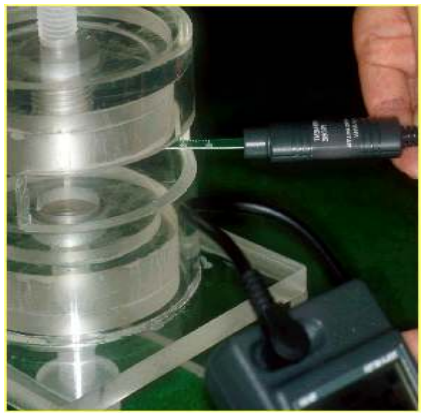


Fig. 3. Evaluation of strength of magnetic field with Gauss meter

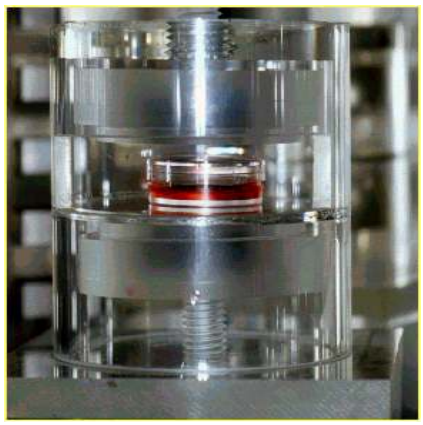


Fig. 4. Cell culturing under the magnetic field

5. IGF-I 수용체(insulin-like growth factor -I receptor) 면역형광염색

각기 다른 세기의 자장 하에서 세포를 24시간 배양한 후에 면역형광염색을 위한 일련의 과정을 시행하였다. 먼저 세포배양판에서 배지를 제거한 후 0.01M 인산완충용액(pH 7.4)으로 세포를 2회 수세하고, 4% 중성 포르말린으로 30분간 고정을 실시하였다.

그 후, 비특이적 반응을 방지하기 위해 정상혈청(goat normal serum; Santa Cruz, USA)으로 실온에서 30분간 반응시킨 후, 일차항체로서 IGF-I 수용체에 대한 토끼의 항체(Santa Cruz, USA)를 세포에 적용하여 실온에서 2시간 반응시켰다. 다시 세포를 0.01M 인산완충용액으로 2회 수세하고, 형광 표지된 이차항체인 goat anti-rabbit IgG (Santa Cruz, USA)를 적용하여 실온에서 30분간 반응시켰다. 0.01M 인산완충용액으로 수세한 후, 형광현미경으



Fig. 5. Inverted microscope (Olympus, Japan)



Fig. 6. Fluorescence microscope (Leica MicroStar IV, Leica, Germany)

로 관찰하여 IGF-I 수용체의 발현 정도를 비교하고 배지 1mm^2 당 발현 개수를 측정하였다.

6. Western immunoblotting analysis

1) Western immunoblotting의 원리[17-19)]

항원-항체 반응을 이용하여 여러 단백질 혼합물 중에서 원하는 특정 단백질만을 찾아내는 방법이다. 분석하고자 하는 단백질을 SDS- PAGE (sodium dodecyl sulfate- polyacrylamide gel electrophoresis)에 걸어 크기별로 분리한 다음 Coomassie brilliant blue에 바로 염색해서 보는 방법과 nitrocellulose 또는 nylon mem- brane으로 전이시키는 방법이 있다. 그 후, 원하는 단백질을 fluorescence, radioactivity, enzyme 등을 이용해서 그 band를 볼 수 있다. enzyme을 이용한 방법은 alkaline phosphatase나 horseradish peroxidase 등과 chromogenic sub-strate(BCIP, NBT)를 반응시킨다.

2) 실험 방법

가. Lysis buffer 처리

앞의 실험과 동일한 조건으로 세포를 배양한 후, 세포배양판에서 배지를 제거하여 tube에 보존해 두고 0.01M 인산완충용액으로 수세한 후 trypsin 1ml를 넣고 37℃에서 5분간 방치하였다.

보존하였던 배지를 혼합하여 tube에 옮기고 1800rpm, 4℃에서 10분 동안 원심분리하였다. 100μl의 lysis buffer를 넣고 30분간 얼음에서 방치한 후 12000rpm, 4℃에서 15분 동안 원심분리하여 상층액을 취해 바로 -20℃에서 냉각시켰다.

나. Acrylamide gel electrophoresis

본 실험에서 분리하고자 하는 단백질인 IGF-Iα 수용체(Santa Cruz, USA)는 분자량이 85KDa으로 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. stacking gel 부위는 30-60V, running gel 부위는 60-120V로 유지하며 2시간 동안 전기영동을 시행하였다.

다. Nitrocellulose membrane으로의 이전

전기영동을 시행한 gel과 6장의 Whatman paper, 그리고 nitrocellulose membrane을transfer buffer 에 담근 후 5분간 진동을 시행했다. 3장의 Whatman paper와 nitrocellulose membrane을 순서대로 깔고 그 위에 gel을 놓은 후 다시 3장의 Whatman paper를 깐 다음, 상판을 덮고 0.8mA/cm2의 전류를 적용시켰다.

1시간 후에 Amido Black 염색을 시행하여 band를 확인하였다.

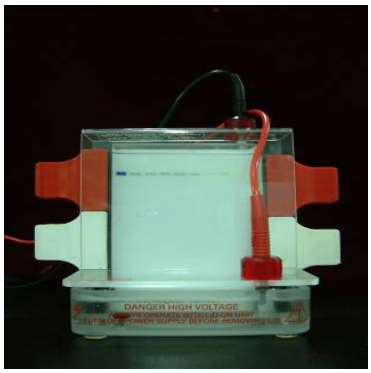


Fig. 7. SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide membrane gel electrophoresis)



Fig. 8. Transfer to nitrocellulose membrane

라. Western blotting

IGF-Iα 수용체가 이전된 nitrocellulose mem- brane을 5% BSA in TBST(Bovine Serum Albumin in Tris Buffer Saline Tween20)에 넣어 2시간 동안 진동을 시행한 후, 다시 TBST로 10분씩 6회에 걸쳐 진동을 주어 수세하였다.

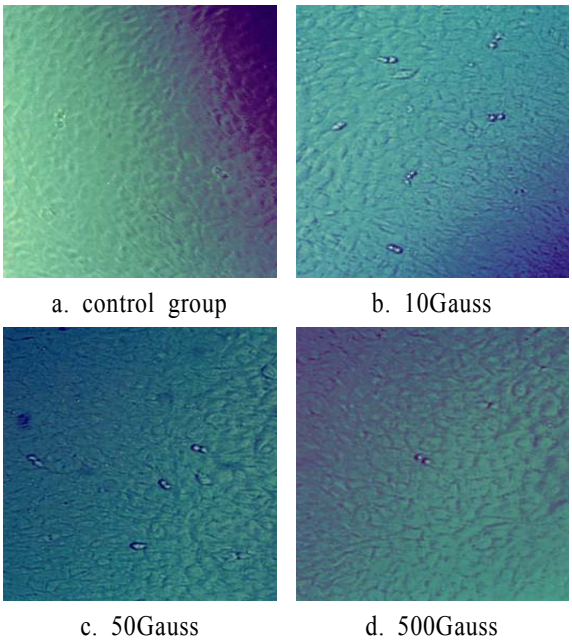
일차항체인 IGF-I 수용체에 대한 토끼의 항체를 1시간 동안 적용시킨 후 TBST로 10분씩 3회에 걸쳐 진동을 주어 수세하고, 이차항체인 goat anti-rabbit IgG-HRP(Santa Cruz, USA)를 1시간 동안 적용시킨 후 TBST로 10분씩 3회에 걸쳐 진동을 주어 수세하였다.

각각의 자장 하에서의 IGF-I 수용체의 발현 정도를 85KDa부위에 형성된 band를 관찰하여 비교하였다.

Ⅲ. 연구성적

1. 역광현미경 관찰

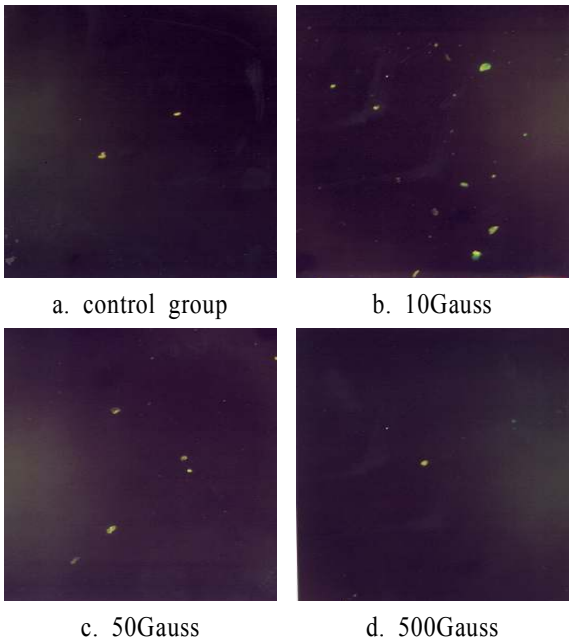
10Gauss의 자장 하에서 배양한 세포의 핵 분열이 가장 왕성하였고, 세포가 밀집된 정도도 가장 크게 관찰되었다.



a. control group　b. 10Gauss

c. 50Gauss　d. 500Gauss

Fig. 9. Cell division and density under the magnetic field



a. control group　b. 10Gauss

c. 50Gauss　d. 500Gauss

Fig. 10. IGF-I receptor change under the magnetic field

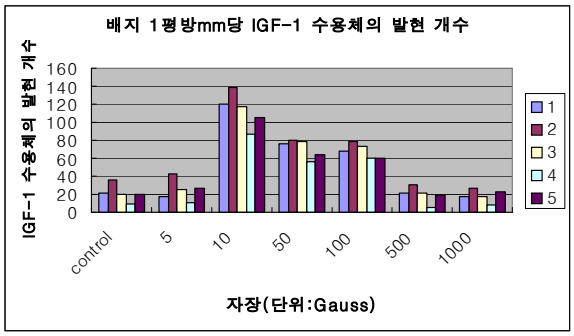


Fig. 11. IGF-I 수용체의 발현 개수(배지 1mm^2 당)

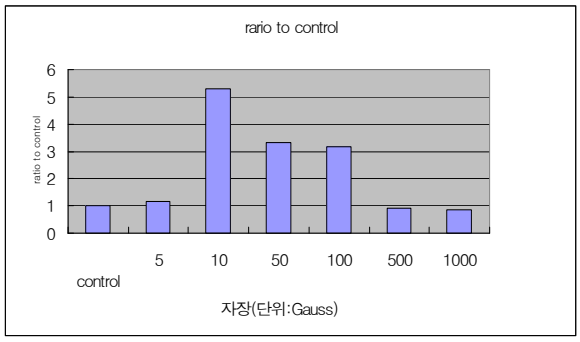


Fig. 12. 대조군에 대한 IGF-I 수용체의 발현 개수의 비율

2. IGF-I 수용체 면역형광염색

1) 형광현미경 관찰

10Gauss의 자장 하에서 배양한 실험군에서 IGF-I 수용체의 발현이 가장 많이 관찰되었다. 50, 100 Gauss의 자장 하에서 배양한 실험군은 IGF-I 수용체의 발현 정도가 대조군 보다는 높게, 10Gauss의 자장 하에서 배양한 실험군 보다는 낮게 나타났다. 5, 500, 1000Gauss의 자장하에서 배양한 실험군은 대조군과 유의한 차이를 나타내지 않았다.

2) IGF-I 수용체의 발현 개수

표1은 5회의 실험에 걸쳐 형광현미경으로 관찰한 IGF-I 수용체의 배지 1mm^2 당 발현 개수의 측정 결과이며, 그림11은 이를 도표화한 것이고 그림12는 대조군에 대한 비율로 표시한 도표이다.

표2는 IGF-I 수용체의 배지 1mm2 당 발현 개수에 대한 통계 분석을 위한 평균과 표준편차를 나타낸 것이며, 표3은 이를 바탕으로 시행한 등분산성 검사로 p값이 0.05보다 크므로 정규분포, 즉 등분산성을 나타내어 모수 분석인 one-way ANOVA(analysis of variance)를 이용하였다. 그 결과 표4에서와 같이 그룹 간에 유의차가 있음이 입증되었다($p<0.05$).

표5에서 보는 바와 같이 사후검정(Tukey test)결과 유의성있는 세 개의 그룹으로 분류되었으며 Group1 - 10 Gauss, Group2 - 50, 100Gauss, Group3 - control, 5, 500, 1000Gauss의 크기 순이었다 ($p<0.05$). IGF-I 수용체의 발현 개수에 있어 10Gauss의 실험군은 대조군의 531%를 나타냈으며 두 군간에 통계학적으로 유의성 있는 차이를 보였다 ($p<0.05$). 다음으로, 50, 100 Gauss의 실험군은 각각 대조군의 331%, 318%를 나타냈으며 대조군과의 통계학적 유의차를 나타내었다($p<0.05$). 그러나, 5, 500, 1000Gauss의 실험군은 각각 대조군의 116%,

Table 1. IGF-I 수용체의 발현 개수(배지 1mm2 당)

	control	5	10	50	100	500	1000
1	21.25	17	120	75.5	67.5	21	18
2	35.5	42.75	139.25	79.5	78.75	31.25	26.25
3	20.25	25.75	117	78.25	73	21.5	18
4	9.5	11.25	86.25	56.5	60	6	8
5	20.5	27.25	105.25	64.5	60.5	19	22.25
합계	107	124	567.75	354.25	339.75	98.75	92.5
평균	21.4	24.8	113.55	70.85	67.95	19.75	18.5
ratio to co control	1	1.158879	5.306075	3.310748	3.175234	0.922897	0.864486

Table 2. 각 자장 하에서의 IGF-I 수용체 발현 개수에 대한 평균과 표준편차

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.00	5	21.4000	9.2544	4.1387	9.9092	32.8908	9.50	35.50
2.00	5	24.8000	11.9745	5.3551	9.9318	39.6682	11.25	42.75
3.00	5	113.5500	19.5459	8.7412	89.2805	137.8195	86.25	139.25
4.00	5	70.8500	9.9681	4.4579	58.4730	83.2270	56.50	79.50
5.00	5	67.9500	8.0785	3.6128	57.9192	77.9808	60.00	78.75
6.00	5	19.7500	9.0347	4.0404	8.5320	30.9680	6.00	31.25
7.00	5	18.5000	6.7984	3.0404	10.0586	26.9414	8.00	26.25
Total	35	48.1143	36.0836	6.0992	35.7191	60.5094	6.00	139.25

Table 3. 각 자장 하에서의 IGF-I 수용체 발현 개수에 대한 등분산성 검사

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.170	6	28	.350

92%, 86%를 나타냈으며 대조군과의 통계학적 유의차는 보이지 않았다(p>0.05).

3. Western immunoblotting analysis

분자량이 85KDa인 IGF-Iα 수용체의 band(그림 13의 marker중 60KDa을 나타내는 분홍색 band의 바로 위의 band가 85KDa을 나타냄)는 10Gauss의 자장 하에서 가장 진하게 관찰되었다.

Table 5. 각 자장 하에서의 IGF-I 수용체 발현 개수에 대한 Tukey test

VAR00002

Tukey HSD[a]

VAR00001	N	Subset for Alpha = .05		
		1	2	3
7.00	5	18.5000		
6.00	5	18.7500		
1.00	5	21.4000		
2.00	5	24.8000		
5.00	5		67.9500	
4.00	5		70.8500	
3.00	5			113.5500
Sig.		.973	1.000	1.000

Mans for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Table 4. 각 자장 하에서의 IGF-I 수용체 발현 개수에 대한 ANOVA 분석

ANOVA

VAR00002

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	40654.743	6	6775.790	52.494	.000
Within Groups	3614.175	28	129.078		
Total	44268.918	34			

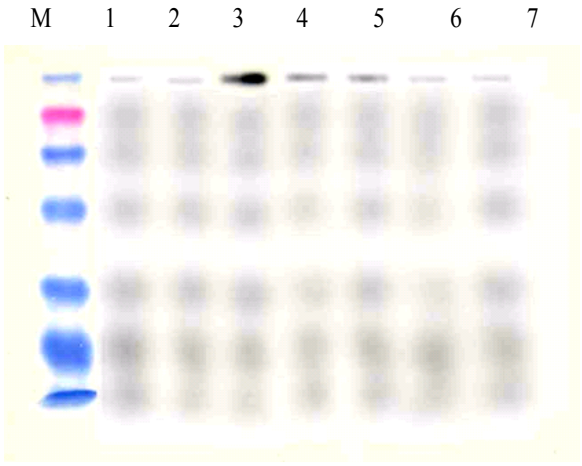


Fig. 13. Western immunoblotting analysis (M: marker, 1: control group, 2: 5Gauss, 3: 10Gauss, 4: 50Gauss, 5: 100Gauss, 6: 500Gauss, 7:1000Gauss)

Ⅳ. 총괄 및 고찰

Black 등[20]은 처음으로 전자기장이 세포 수준에서 신호(message), 호르몬(hormone), 기질(substrate)로 구성된 3가지 기본적인 양식으로 적용된다고 제안하였다. 신호 단계에서는 전자기장이 이온통로(ion channel)에서 검출될 수 있으며, 부하가 가해지거나 또는 전자기장 발생 장치에 의해서 적절한 자극이 가해질 때 이온통로의 반응을 유발시키고, 호르몬 단계에서는 전자기장이 수용체에 결합하는 호르몬이나 수용체, 또는 수용체 자체를 자극해서 존재하는 호르몬의 역할을 변화시키며, 기질 단계에서는 전자기장이 세포막 투과성, pH, 산소농도 또는 다른 수단을 변화시켜서 기질의 효용성을 변화시킨다고 하였다.

Inoue 등[21]은 전자기장 노출은 골세포에 직접적으로 자극을 주어 골 재형성을 촉진시킨다고 하였으며, 전자기장 자극 이후 미분화간엽세포들이 골모세포와 골세포로 분화하는 것을 관찰, 보고하였다.

1990년대 들어 성장인자에 관한 연구가 활발해지기 시작했는데[22-23], Fizsmmon 등[24-26]은 전자기장 자극 이후에 세포에서 분비되는 증가된 성장인자와 관련되어서 골세포 증식이 증가하는 것을 보고하였으며, 골의 중요한 요소인 IGF-I은 전자기장 자극 이후에 증가되고, 이는 증가된 성장인자의 분비에 의해 확인된다고 하였다. IGF-I 수용체 (insulin-like growth factor-I receptor)는 2개의 extracellular α subunit와 2개의 transmembrane β subunit로 구성된 분자량 350KDa의 당단백질로 이 실험에서는 85KDa의 IGF-Iα 수용체를 이용하였다. IGF-I 수용체는 IGF-I 과 IGF-II 의 성장효과의 원인이 되며[12], Canalis 등[27-28]은 IGF-I, IGF-II 와 같은 성장인자는 골형성에 있어 가장 강력한 자극원이라 하였으며, McCarthy 등[29]은 IGF-I 과 IGF-II 는 골모세포의 증식과 교원질 합성을 촉진한다고 하였다.

또한, Lohmann 등[30]의 보고에 의하면 전자기장의 자극은 골모세포의 분화와 활성, 세포외 기질 합성과 성장인자의 분비에 영향을 미치며 실제 in vivo 상에서도 골의 흡수를 감소시키고 형성을 증가시키는 효과가 있다고 하였다.

이 실험에서는 순수한 자석을 가지고 순수한 자장 하에서 실험하였는데 그 기전이나 결과는 전자기장과 같을 것이라 예상되지만, 자석을 이용할 경우 오히려 전기적인 자극을 배제하면서 순수한 자장의 효과만을 실험할 수 있다는 장점을 가진다. 이 실험에서도 성장인자와 성장인자 수용체의 발현 증가가 골모세포의 세포 활성도를 증가시키는 한 원인이라 생각되었다. 하지만, 그 효과에 대해서는 향후 더 많은 연구와 실험이 필요하며, 자장의 적용 방법도 가장 효과적이면서 간편한 것으로 발전해야 할 것으로 사료된다.

한가지 더 고려해야 할 사항은 자석이 인체조직에 유해한 지에 관한 내용이다. Altay 등[31]은 자석을 식립한 조직표본을 관찰한 동물 실험 결과 국소적으로 미치는 자장의 경우 주위 조직의 병리학적인 소견은 관찰할 수 없다고 보고하였으며, Yan 등[32]은 동물 실험결과 자장이 외상이나 수술시 손상으로 인한 골의 무기물 흡수를 방지함으로써 오히려 재광화를 돕는 작용이 있다고 보고하였다. 따라서, 이는 향 후 동물 실험에 있어 좋은 참고 자료가 될 만하며 아울러 이들 세포들이 유기적 관계를 맺고 있는 상황에서의 자석의 효과가 다양하게 연구되어야 할 것이라 생각된다.

Ⅴ. 결 론

자성이 골모세포의 활성도를 증가시키는 최적의

자장의 세기를 알아내기 위하여 자장의 영향을 배제한 대조군과 각기 다른 세기의 자장인 5, 10, 50, 100, 500, 1000 Gauss의 자장 하에서의 실험군을 24시간 배양한 골모세포에 있어서 IGF-I 수용체의 면역형광염색과 Western immunoblotting analysis를 시행한 이번 연구에서, 선행 연구인 조 등[33]의 연구결과를 비교해 본 후 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 역광현미경 관찰시 10Gauss의 자장 하에서 배양한 골모세포의 핵 분열이 가장 왕성하였고, 세포가 밀집된 정도도 가장 크게 관찰되었다.
2. 골 형성의 중요한 기준이 되는 골모세포의 IGF-I 수용체는 면역형광염색 결과, 10Gauss의 자장 하에서 그 발현이 최대로 증가하였으며 통계학적으로 유의성이 인정되었다($p<0.05$).
3. Western immunoblotting 분석 결과, 분자량이 85KDa인 IGF-Iα 수용체의 band는 10Gauss의 자장 하에서 가장 진하게 나타났다.

이상의 결과로 보아 자성이 골모세포의 활성도를 증가시키는 최적의 자장의 세기는 10 Gauss 정도로 관찰되었으며 임상적으로 골 생성이 증진되는 효과가 기대되었다. 따라서, 향 후 구강내 임플란트나 골이식술 분야에 있어서 임상적으로 응용 가능할 것으로 판단되었다.

참 고 문 헌

1. Fukuda E, Yasuda I.: On the piezoelectric effect of bone. J Physiol Soc Japan 12: 121-128, 1957
2. Schmitt O.: The influence of the electromagnetic field on the activity of alkaline phosphatase in immobilised children. Arch Orthop Trauma Surg 93(1): 21-24, 1978
3. Matsunaga S, Skau T, Yoshikuni N, et al.: Intramedually 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 2:67-71, 1988
4. Matsunaga S, Sakou L, Jiri K.: Osteogenesis by pulsing electromagnetic fields: optimum stimulation setting. In Vivo 10(3):351-6, 1996
5. Davidovitch Z, Korostoff E, Finkelson MD, et al.: Effect of electric currents on gingival cyclic nucleotides in vivo. J Periodont Res 15:355-362, 1980
6. Davidovitch Z, Shanfeld L, Montgomery PC, et al.: Biomechanical mediators of the effectsof mechanical forces and electric currents on mineralized tissues. Calcif Tissue Int 36:s86-s97, 1984
7. Lee JH, Mcleod KJ.: Morphologic response of osteoblast-like cells in monolayer culture to electromagnetic fields. Bioelec- tromagnetics 21:129-136, 2000
8. Brighton CT, Pollack SR.: Treatment of recalitrant nonunion with a capacitively coupled electric field. J Bone Joint Surg 67:577-585, 1985
9. Basset CAL, Mitchell SN, Norton L, Pilla AA.: A nonoperative salvage of surgically resistant pseudarthoses and nonunions by pulsing electromagnetic fields: a prelimi- nary report. Clin Orthop 1245:128-143, 1977
10. Rabby JT.: Clinical effects of electromag- netic and electric fields on the fracture healing. Clin Ortho Oct;(355 Suppl):S205- 15, 1998
11. Kawata T, Hirota K, Sumitani K, et al.: A new orthodontic force system of mag- netic brackets. Am J Orthod Dentofacial Orthop 92:241-248, 1987.
12. Jacobs JD, Norton LA.: Electrical stimulation of osteogenesis in pathological osseous defects. J Periodontal 47:311-319, 1976
13. Basset CAL, Pawluk RJ, Pilla AA.: Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields. Science 184:575-577, 1974
14. Heppenstall RB, Brighton CT, Esterhai JL, Muller G.: Prognosis factors in non-union of the tibia: an evaluation of 185 cases treated with constant direct current. J Trauma 24:790-795, 1984
15. Patterson D.: Treatment of nonunion with a constant direct current: A totally implantable system. Orthop Clin North Am 15:47-59, 1984.
16. Brighton CT, Black J, Friedenberg ZB, et al.: A multicenter study of the treatment of non-union with constant current. J Bone Joint Surg 63a:2-13, 1981
17. 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 studies. Anal. Biochem., 154:138-143, 1986
18. Hakeda Y, Yoshizawa K, Hurley M, Kawaguchi H, Tezuka K, Tanaka K, Satoh T, Kumegawa M.: Stimulatory effect of a phorbol ester on expression of

insulin-like growth factor(IGF) binding protein-2 and level of IGF-I receptors in mouse osteoblastic MC3T3-E1 cells. J Cell Physiol 158(3):444-450, 1994
19. Andress DL, Birnbaum RS.: A novel human insulin-like growth factor binding protein secreted by osteoblast-like cells. Biochem. Biophys. Res. Commun., 176:213 -218
20. Black J.: Electrical stimulation, its growth, repair, and remodeling of the mucoskeletal system. New york praeger:2-3, 1987
21. Inoue S, Ohashi S, Kajikawa K, et al.: The effects of electrical stimulation on the bone differentiation to the bone. Orthop Res Sci 7:501-507, 1980
22. Canalis E, McCarthy T, Centrella M.: Growth factors and the regulation of bone remodeling. J. Clin. Invest., 81:277-281, 1988
23. Harris H.: The human alkaline phosphatases: What we know and what we don't know. Clin. Chim. Acta. 186:133-150, 1990
24. Fitzsimmons RJ, Farley JR, Adey WR, Baylink DJ.: Frequency dependence of increased cell proliferation, in vitro, in exposures to a low-amplitude, low- frequency electric field: evidence for dependence on increased mitogen activity released into culture medium. J Cell Physiol 139:586-591, 1989
25. Fitzsimmons RJ, Farely JR, Mohan S, Baylink DJ.: Low amplitude, low frequency electric field-stimulated bone cell proliferation may in part be mediated by increased IGF-2 release. J Cell Physiol 150:84-89, 1992
26. Centrella M, McCarthy T, Canalis E.: Cyclic AMP induces insulin-like growth factor I synthesis in osteoblast-enriched cultures. J. Biol. Chem., 264:18268-18271, 1989
27. Canalis E, McCarthy T, Centrella M.: The regulation of bone formation by local growth factors. Bone and Mineral Research 6:27-56, 1989
28. Centrella M, McCarthy T, Canalis E.: Cyclic AMP induces insulin-like growth factor I synthesis in osteoblast-enriched cultures. J. Biol. Chem., 264:18268-18271, 1989
29. 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, 124:301-309, 1989
30. CH Lohmann, Z Schwartz, Y Liu, H Guerkov, DD Dean, B Simon, BD Boyan.: Pulsed electromagnetic field stimulation of MG63 osteoblast-like cells affects differentiation and local factor production, Journal of orthopaedic research, 18:637- 646, 2000
31. OT Altay, T Kutkam, O Koseoglu, S Tanyeri.: The biological effects of implanted magnetic fields on the bone tissue of dog. Int J Oral Maxillofac Implants 6:345-349, 1991
32. Yan QC, Tomita N, Ikada Y.: Effects of static magnetic fields on bone formation of rat femurs, Med Eng Phys, 20:397-402, 1998
33. 조영욱, 최부병, 이성복: 희토류 자석(Neodymium Magnet)의 자성이 뼈모세포의 활성도에 미치는 영향, 대한치과턱관절기능교합학회지 19권 투고 중, 2002