대한척추외과학회지 제11 권 제 4 호
Journal of Korean Spine Surg.
Vol. 11, No. 4, pp 194~201, 2004

저 파동성 전자기장이 인간 추간판 세포에 미치는 영향

권언혜 · 문성환 · 김 향 · 이광일 · 전지애 · 김학선 · 이환모

연세대학교 의과대학 정형외과학교실

The Effect of Pulsed Electromagnetic Field in Human Intervertebral Disc Cell

**Un-Hye Kwon, B.Sc., Seong-Hwan Moon, M.D., Hyang Kim, M.Sc.,
Kwang-il Lee, B.Sc., Ji-Ae Jun, B.Sc., Hak-Sun Kim, M.D., Hwan-Mo Lee, M.D.**

Department of Orthopaedic Surgery, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

– Abstract –

Study design: An in vitro experiment.

Objectives: To assess the effect of pulsed sinusoidal EMF on human intervertebral disc (IVD) cells.

Literature Review Summary: Electromagnetic field (EMF) is known to modify some relevant physiological parameters of cells cultured in vitro, such as proliferation, synthesis, secretion of growth factors and transcription. EMF induces bone formation in delayed, non union and spinal fusion models. Also, the exposure of EMF has been shown to protect against the hazardous effect of smoking in the rabbit IVD.

Materials and Methods: Human IVD cells were three-dimensionally cultured in alginate beads and exposed to a 650Ω, 1.8mil-litesla magnetic flux density, 60Hz sinusoidal wave of EMF. The cultures were divided into the control and EMF groups, with various exposure times. The cytotoxicity, and DNA and proteoglycan syntheses were measured by the MTT assay, and [3H]-thymidine and [35S]-sulfate incorporation, respectively. RT-PCRs were performed for aggrecan, and collagen types I and II mRNA expressions.

Results: There was no recognizable cytotoxicity in the EMF group, but cellular proliferation was stimulated ($p<0.05$). Newly synthesized proteoglycan, normalized by DNA synthesis, was decreased in the EMF group ($p<0.05$) as were the expressions of aggrecan (48hour exposure) and type II collagen (72 hours exposure) mRNA compared to the control group.

Conclusions: EMF seems to be hazardous in the synthesis of the chondrogenic matrix, while marginally beneficial in the cellular proliferation of human IVD cells.

Key Words: Electromagnetic fields(EMF), Intervertebral disc(IVD), Proteoglycan

Address reprint requests to
Hwan-Mo Lee, M.D.
Department of Orthopaedic Surgery, Yonsei University College of Medicine
#134 Shinchon-Dong, Soedaemun-ku, Seoul, 120-752, Korea
Tel: 82-2-361-5648, Fax: 82-2-363-1139, E-mail: hwanlee@yumc.yonsei.ac.kr

* 본 연구는 부분적으로 CMB-YUHAN 연구비(6-2003-0092)에 의해 지원되었음

서 론

저에너지 저 파동성 전자기장의 생체 조직에 대한 효과에 대해서는 많은 연구가 진행되었는데 일부 조직에서는 세포 사멸을 조장하기도 하지만 주로는 세포분열을 촉진시키고 기질 생성을 자극하며 특히 지연 유합이나 불유합 혹은 척추 유합술에서의 전자기장의 효과는 이미 임상적용 단계에 있을 만큼 고무적이다[1-4]. 이러한 전자기장의 작용 기전은 세포 내 전사(transcription), 기질 합성, nitric oxide 생성, prostaglandin E2 생성, insulin like growth factor-II, transforming growth factor-β1 등 성장 인자 분비 등을 조절하여 생체 내 생물학적 반응을 일으켰다[5-7]. 더구나 전자기장은 연골 조직에서 세포증식을 유도하며 세포외 기질과 glycosaminoglycan(GAG)의 합성을 증가시켰다[8-9]. 또한 골조직에서는 골세포 증식, 골성 분화, 골성 표현형 발현을 유도하여 관절 연골 재생 및 골절 치유에 유효한 치료 효과를 발휘하였다[10-11]. 추간판 조직에 대한 전자기장의 효과에 대한 연구는 현재까지는 Hambly와 Mooney의 연구[12]가 유일한데 그들은 토끼를 흡연에 노출시킨 후 토끼 추간판의 산성도를 측정하고 흡연에 노출된 토끼를 다시 하루 4시간의 전자기장에 노출시켜 추간판의 산성도가 정상으로 환원되는 것을 관찰한 후 전자기장의 추간판 보호 효과를 보고하였다. 추간판의 대사에는 영양, 산소 분압, 성장인자, 산성도, 압력, 등의 다양한 생화학적, 생역학적 인자가 관여한다고 알려져 있지만 아직까지 전자기장이 추간판의 대사에 어떠한 관여를 하는지에 대해 명백하게 보고 된 적은 없는 실정이다.

그리하여 본 연구에서는 전자기장 발생장치를 고안 제작하고 이를 인간의 척추 추간판 세포에 조사하여 세포 증식, 당단백 생성, 연골성 표현형 발현 등 생화학적, 분자 생물학적 연구를 진행하여 전자기장의 추간판 세포에 대한 효과를 제시하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 추간판 세포 배양

추간판 탈출증으로 추간판 제거술을 시행한 10명의 환자 (28세~48세)에서 수술중 추간판 수핵부 조직을 채취하였다. 척추관내로 탈출된 추간판 조직은 엄격히 제외하고 역시 척추 연골판 조직도 육안으로 제외하였으며 추간판의 수핵 및 내측 섬유륜 부위의 조직만을 채취하였다. 통상 채취 후 20분 내에 수술실에서 실험실로 옮긴 후 채취된 추간판 조직으로부터 혈액 및 체액을 제거하기 위해 Dulbecco 's Phosphate-buffered saline (D-PBS, Invitrogen, Grand Island, NY)으로 세척, 순차적 효소 소화법으로 조직에서 분리하였다. 이를 간단히 요약하면, 먼저 세척된 추간판 조직을 잘게 썬 다음 5% 우태아 혈청 (FBS, JRH BIOSCINCES, Lenexa, KS)과 1% v/v penicillin/streptomycin (all antibiotics from Invitrogen, Grand Island, NY)이 함유된 Ham' s F-12 medium (Invitrogen, Grand Island, NY)에 0.2% pronase (Sigma, St. Louis, MO), 0.004% deoxyribonuclease II type IV(DNAse, Sigma, St. Louis, MO)를 첨가한 제1의 효소용액을 이용하여 37℃에서 60분간 소화시켰다. 상기의 효소 용액에서 pronase를 0.02% collagenase type II (Sigma, St. Louis, MO)로 대치시킨 제2의 효소용액으로 역시 37℃에서 2~3시간 정도 소화시켰다. 분리된 추간판 세포는 Dulbeccos Modified Eagle Medium; Nutrient Mixture F-12 (Ham) (DMEM/F12, Invitrogen, Grand Island, NY)으로 세척, Nylon 여과지 (pore size 75 um)를 사용하여 부유 조직을 제거한 후 25cm^2-EasYFlask™ (NUNC, Rockilde, Denmark)에서 배양하였다. 세포 배양액은 10% FBS, 25ug/ml ascorbic acid, 1% v/v penicillin/streptomycin(all antibiotics from Invitrogen, Grand Island, NY)을 함유한 DMEM/F12 배양액을 사용하였다. 추간판 세포는 3주간 5%의 CO_2를 포함한 37℃ 습윤 배양기에서 계대 배양하였고 3일에 한번씩 새로운 배양액으로 교체하였다.

2. 전자기장 발생 장치

전자기장 발생장치는 McLeod 등의 고안과 유사하게 제작하였다[13].(Fig. 1) 배양되는 세포에 균일하게 전자기장을 걸어주기 위하여 12cm 직경과 30cm 높이의 원통형 polyethylene tube 바깥 면에 절연된 구리선을 촘촘히 감아 전기 공급 장치에 연결시켰다. 배양된 세포군은 원통형 용기의 3차원적 공간의 중간부분의 받침대 위에 배치하였다. 구리선은 650 ohme의 저항을 이루게 제작되었고 전원을 연결하였을 때 1.8 militesla(mT) magnetic flux density (Walker mode MG2A Gaussmeter로 측정)가 발생하도록 설계하였다. 30 Hz의 sinusoidal 파장을 발생시키기 위한 파장 발생기를 제작하여 전원 공급 장치에 연결시켜 전원 연결 시 1.8 mT의 전자기장이 30 Hz의 sinusoidal 파장을 발생하도록 하였다.

3. 추간판 세포의 3차원 배양법

3차원 배양을 간단히 기술하면, 0.15M NaCl에 2.4%로 녹인 low viscosity alginic acid (Sigma, St. Louis, MO)를

분리해 둔 세포와 정확히 1/2씩 섞어 alginic acid 용액의 농도가 1.2%가 되도록 준비하였다.(최종 세포의 숫자는 2×10^6 cells/ml이 된다.) 26 G의 1 cc 주사기를 이용하여, 102 mM $CaCl_2$ 용액이 담겨진 24 well plate에 alginic acid 용액과 세포 혼합액을 방울방울 떨어뜨려 순간적으로 굳게 하였다. 혼합액 방울은 well당 10개가 되도록 하며 방울로 떨어진 혼합액이 완전히 polymerization이 되도록 10분간 상온에서 방치하였다. 세포를 saline으로 두 차례 세척하고 10% FBS, 25 ug/ml ascorbic acid, 1% v/v penicillin/streptomycin (all antibiotics from Invitrogen, Grand Island, NY)을 함유한 DMEM/F12 배양액으로 한 번 더 세척하였다. 세포 배양액을 well당 1 ml씩 첨가하여 5%의 CO_2를 포함한 37℃ 습윤 배양기에서 배양하였다.

4. MTT assay

PBS로 MTT stock 용액(5 mg MTT(3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)/ml)을 미리 만들어 0.45 μm syringe filter로 filtration해 놓고 working 용액은 1:5 (MTT stock용액: 배양액)로 하여 사용하였다. 전자기장에 다양한 시간별로 노출시킨 인간 추간판 세포를 새로운 기본 배지로 교체해 주고 50 μl MTT working 용액을 첨가하였다. 알루미늄 호일로 plate를 싸서 빛을 차단한 후 37℃에서 4시간동안 반응시켰다. 상층액을 조심해서 걷어낸 다음 DMSO(Dimethy sulfoxide, sigma, D-5879)를 200 μl 첨가하여 10분 동안 rotator에서 혼합시켰다. spectrophotometer를 사용하여 570 nm의 파장에서 Absorbance를 측정하였다.

5. 세포증식 반응 (H3-Thymidine incorporation)

세포 증식 반응을 알아보기 위하여 DNA 생성을 측정하였다. 추가 배양 후 배양액을 [methyl-3H]thymidine (Amersham pharmacia, Uppsala, sweden) 5 μCi/ml이 첨가된 기본 배지로 교체하여 24시간 동안 배양하였다. 24시간 후 세포를 PBS로 씻어내고, 28 mM EDTA (pH8.0) / 0.15 M NaCl로 3차원 배양한 alginate bead를 녹여 세포만을 분리, cell harvester를 이용하여 Glass microfiber filter (Whatman, Maidstone, England)에 세포를 흡착시켰다. D-PBS로 수차례 세척하여 unbounded [methyl-3H]thymidine을 완전히 제거하였다. 16시간동안 상온에서 membrane을 완전히 말린 후, 이 membrane을 scintillation vials에 담아 Liquid scintillation cocktail 용액 (Beckman, Fullerton,CA)을 3 ml 첨가하고 상온에서 16시간이상 방치하여 DNA가 노출되도록 하였다. βscintillation counter (Packard, Downers Grove, IL)를 이용하여 DNA 양을 측정하였다.

6. 당단백 생성 측정 (S35-sulfate incorporation)

각 실험군 배양에서 기저 상태 및 조작 후 배양액을 [35S]-sulfate (Amersham pharmacia, Uppsala, Sweden) 20 uCi/ml이 첨가된 기본 배지로 교체하고 4시간 추가 배양하였다. 8 M guanidine hydrochloride, 20 mM EDTA, 그리고 proteinase inhibitors의 혼합액을 세포배양에 첨가하여 4℃에서 48시간동안 당단백을 추출하였다. 방사선 동위원소로 표식되는 당단백의 정량적인 분석을 위해 Sephadex G-25M을 포함한 PD-10 column (Amersham Pharmacia, Uppsala, Sweden)에 통과시켜 순차적으로 용출한 후, Liquid scintillation cocktail 용액(Beckman,

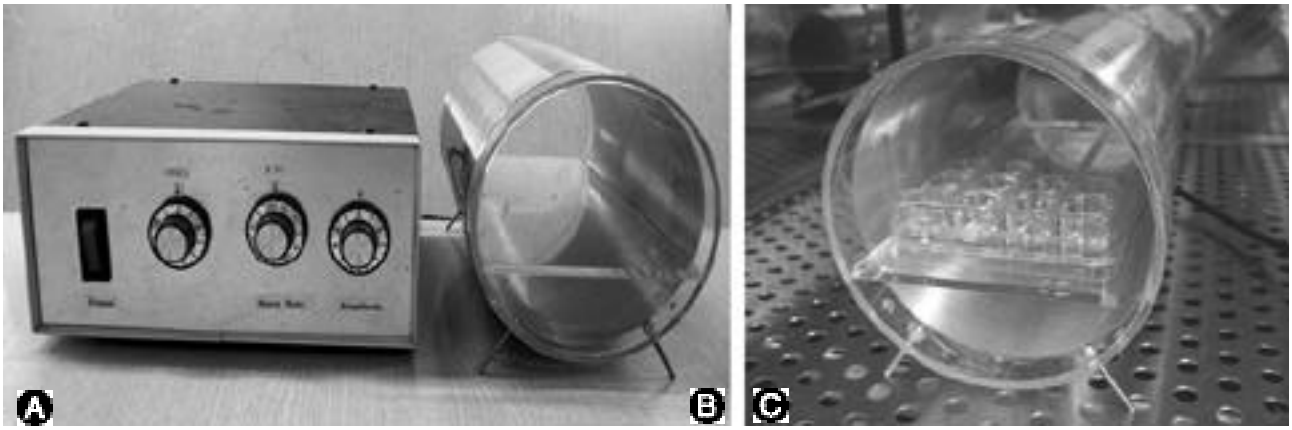

Fig. 1. Electromagnetic field (EMF) generator **A**; Power source **B**; EMF generator **C**; Culture plate in EMF generator. EMF was exposed to IVD cells with 650, 1.8 millitesla magnetic flux density, 60Hz sinusoidal wave. Cultures were divided into control and EMF group with various exposure times.

Fullerton, CA)을 6 ml 첨가하여 16시간 상온에서 방치하였다. 제 2,3,4번째의 용출 용액만을 βscintillation counter (Packard, Downers Grove, IL)로 측정하여 새로이 생성된 당단백의 양을 알아보았다.

7. 세포 표현형 측정 (Aggrecan, 제Ⅰ형 교원질, 제Ⅱ형 교원질 mRNA 발현)

Alginate bead 내에서 3차원 배양한 추간판 세포를 분리하기 위해, 28 mM EDTA (pH8.0) / 0.15M NaCl용액을 첨가하여 depolymerization 시킨 후 RNeasy mini kit (QIAGEN, Maryland, USA)을 이용하여 총 RNA를 분리하였다. 분리한 총 RNA 1ug에 Oligo d(T)16 primer 2.5uM (Invitrogen, Grand Island, NY)를 첨가하여 70℃에서 5분간 annealing시킨 후 RT-premix (Bioneer, 대전, 한국)를 이용하여 42℃에서 1시간, 95℃에서 5분, 4℃에서 5분간 반응하여 cDNA를 합성하였다. 합성한 cDNA 1ul를 각각의 primer 10 pmol/ul씩을 첨가하여 최종 부피가 20ul가 되도록 한 후 PCR premix (Bioneer, 대전, 한국)를 이용하여 aggrecan, 제 I형 교원질, 제II형 교원질, βactin 유전자에 대한 PCR을 실시하였다.(Table 1, 2) RT-PCR에 대한 internal control로 βactin을 사용하였으며 유전자 발현 정도는 TINA program을 이용하여 비교 분석하였다.

8. 실험군

전자기장 발생 장치에 전원 연결 없이 노출된 세포군을 대조군으로 하였으며 전자기장을 각각 1, 4, 6, 12, 24, 36, 48, 72시간 조사(radiation)한 세포군을 실험군으로 하여 세포증식과 당단백 생성, 세포 표현형(aggrecan, 제 I형 교원질, 제II형 교원질 mRNA 발현)을 측정하였다.

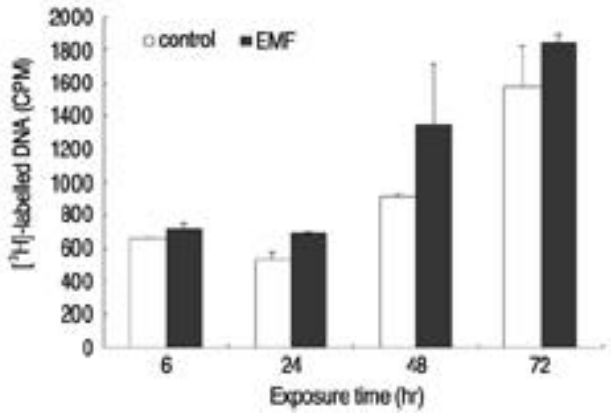

Fig. 2. Percent control of DNA synthesis measured by [3H]-thymidine incorporation (CPM). Control; cultures without EMF exposure, EMF: cultures with EMF exposure for 6, 24, 48, 72 hours.

9. 통계

자료는 SPSS (SPSS, Chicago, IL)를 이용하여 정리하였으며 One way ANOVA 및 t-test로 실험군 간을 비교하였다. 통계적 유의 수준은 $p<0.05$로 정하였다.

결 과

1. 세포 생존 측정

MTT assay로 측정된 전자기장 조사시간에 따른 인간 추간판 세포의 생존율은 대조군과 차이가 없었다.(p=0.542) 본 실험에서 사용된 전자기장의 세기 및 조사시간에 의한 추간판 세포의 세포 독성은 없었다.

2. 세포 증식

다양한 전자기장 조사시간에 따른 세포 증식 반응(DNA 생성)을 측정해보면 실험군이 대조군에 비해 DNA 생성이 증가하는 경향을 나타냈으며 전자기장 조사시간이 48시간 일 때 가장 높은 세포 증식률을 나타내었다(Fig. 2).

3. 신생 당단백 생성

DNA 생성으로 정량화한 당단백 생성은 전자기장 조사시간에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었다.($p<0.05$) 특히 전자기장을 6시간 조사했을 때는 대조군과 큰 차이를 보이지 않으나 조사시간이 길어졌을 때에는(24, 48시간) 대조군과의 차이가 많이 나타남을 관찰하였다($p<0.05$)(Fig. 3).

4. 추간판 세포 표현형의 발현

Aggrecan mRNA 발현은 전자기장을 48시간 조사하였을 때 대조군에 비해 발현 감소가 있었으나 6시간, 24시간 72시간에서는 차이가 없었다. 제II형 교원질 mRNA 발현은 전자기장을 72시간 조사하였을 때 대조군에 비해 발현 감소가 있었으나 6시간, 24시간, 48시간에서는 대조군과 차이가 없었다. 제 I형 교원질 mRNA 발현의 경우는 조사시간에 관계없이 mRNA 발현량에 차이가 없었다(Fig. 4).

고 찰

전기 및 전자기장에 대한 생체의 반응은 새로운 것이 아니며 특히 근골격계 조직에서는 그 유용성이 강조되어 왔다. 전자기장에 대한 생체 조직의 생물학적 반응은 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 첫 번째는 세포 증식 반응에 의한 종양 발생 가능성에 주안을 둔 연구들이며 두 번째는 이러한 세포 증식 반응 및 기질 생성 자극 효과를 이용하여 조직 재생의 수단으로 이용하고자 하는 연구들 이었다[1-5]. 전자기장은 관절 연골 및 비 연골 (nasal cartilage) 세포에서 세포증식을 유도하며 세포외 기질과 GAG의 합성을 자극하였으며[6-7], 골 조직에서는 골세포 증식, 골성 분화, 골성 표현형 발현을 유도하여 골절 치유에 유효한 치료 효과를 발휘하였다[10-11]. 이러한 고무적인 연구 결과에도 불구하고 척추 추간판에 대한 전자기장 효과는 거의 연구되지 않았다. 더구나 추간판 세포를 분리배양하고 전자기장을 조사하여 생물학적 반응을 연구한 경우는 없었다. 그리하여 본 연구는 처음으로 추간판 세포의 전자기장에 대한 생물학적 반응들 즉 DNA 생성, 기질 생성, 세포 독성, 연골성 표현형 발현 등을 체계적으로 연구하였다.

본 연구에서는 인간의 추간판 세포를 사용하였고 세포 배양법도 단층 배양이 아니라 추간판 형질을 제일 잘 반영하는 3차원 배양을 시행하였으며 노출 시간 및 전자기장의 세기가 조정되는 전자기장 발생장치를 개발하여 실험에 사용하였다.

이번 연구의 결과를 보면 다양한 시간별로 전자기장을 조사해도 인간 추간판 세포에서 세포 독성은 관찰할 수 없었다. 전자기장을 추간판 세포에 조사하였을 때 DNA 생성으로 측정한 세포의 증식력은 증가하였는데 이 반응은 조사시간 48시간에 가장 현저하였다. 즉 48시간 전자기장을 조사한 추간판 세포 배양에서는 전자기

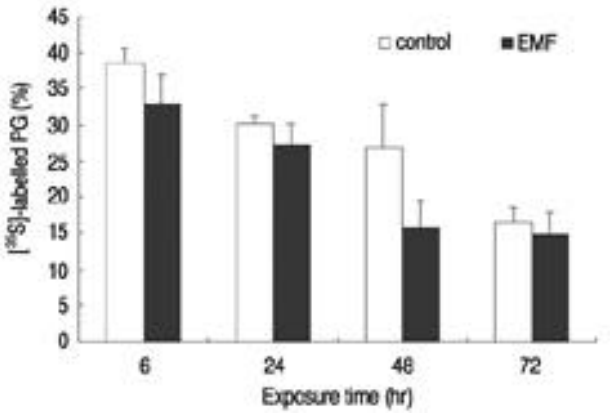

Fig. 3. Percent control of proteoglycan synthesis measured by [35S]-Sulfate incorporation (CPM). Control: cultures without EMF exposure, EMF: cultures with EMF exposure for 6, 24, 48, 72 hours.

Table 1. Sequences of the RT-PCR Primers Used

Primer	Sequence	Length	Size (bp)
βactin	5 '-GGC GGA CTA TGA CTT AGT TG-3 '	20	238
	5 '-AAA CAA CAA TGT GCA ATC AA-3 '	20	
Aggrecan	5 '-GAA TCT AGC AGT GAG ACG TC-3 '	20	541
	5 '-CTG CAG CAG TTG ATT CTG AT-3 '	20	
Collagen type Ⅰ	5 '-CCT GTC TGC TTC CTG TTA AC-3 '	20	182
	5 '-AGA GAT GAA TGC AAA GGA AA-3 '	20	
Collagen type Ⅱ	5 '-CAG GAC CAA AGG GAC AGA AA-3 '	20	328
	5 '-TTG GTC CTT GCA TTA CTC CC-3 '	20	

Table 2. PCR Conditions

Primer	Conditions Cycle			
	Denaturation	Annealing	Polymerization	cycles
βactin	94℃ 5 sec	53℃ 5 sec	72℃ 30 sec	24
Aggrecan	94℃ 5 sec	47℃ 5 sec	72℃ 30 sec	26
Collagen type Ⅰ	94℃ 5 sec	48℃ 5 sec	72℃ 30 sec	21
Collagen type Ⅱ	94℃ 5 sec	48℃ 5 sec	72℃ 30 sec	40

장이 없는 대조군에 비해 60% 증가된 DNA 생성을 보였다. 전자기장 조사 시간이 6, 24, 72시간일 때는 대조군에 비해 의의 있게 DNA 생성이 증가하지는 않았다. 새로 생성된 당단백을 알아보면 추간판 세포의 증식으로 인하여 전자기장 조사군 및 대조군 모두 전반적으로 당단백 생성은 감소하였다. 특히 전자기장을 48시간 조사한 실험군에서는 현저한 세포 증식 효과로 인하여 의의 있게 당단백 생성이 감소하였다. 그리고 추간판 세포 표현형질인 aggrecan, 제 I형 교원질, 제II형 교원질 mRNA 발현을 분석해보면 aggrecan mRNA의 경우 48시간의 전자기장 조사군에서 의미 있는 발현 감소가 있었고 제II형 교원질 mRNA의 경우는 72시간 조사에서 의의 있는 발현 감소가 있었다. 그럼에도 불구하고 제 I형 교원질 mRNA의 경우는 다양한 전자기장 조사시간에서도 대조군에 비해 발현 감소는 없었다. 이는 전자기장에 의해서 특정 조사 시간에서 연골성 표현형의 발현이 감소됨을 알 수 있었다.

본 연구의 의의는 전자기장을 추간판 세포 배양에 적용하여 자세한 생물학적 반응을 최초로 알아본 것에 있었다. 본 연구의 결과로 전자기장의 척추 추간판에 이용을 제안할 수 있는데 이는 전자기장에 의한 강력한 세포 증식 효과를 추간판 재생의 목적으로 사용할 수 있다는 것이다. 즉 체외에서 고안된 전자기장 발생 장치를 이용하여 이환된 추간판에 전자기장을 간헐적으로 조사하여 세포 증식을 간접적으로 유도할 수 있다는 것이다. 또 다른 이용 방법은 최근 많이 시도되는 조직 공학적 추간판 재생에서 추간판 세포의 체외 배양 및 증폭은 필수적인데 이때 세포 증식을 유도하기 위해 전자기장을

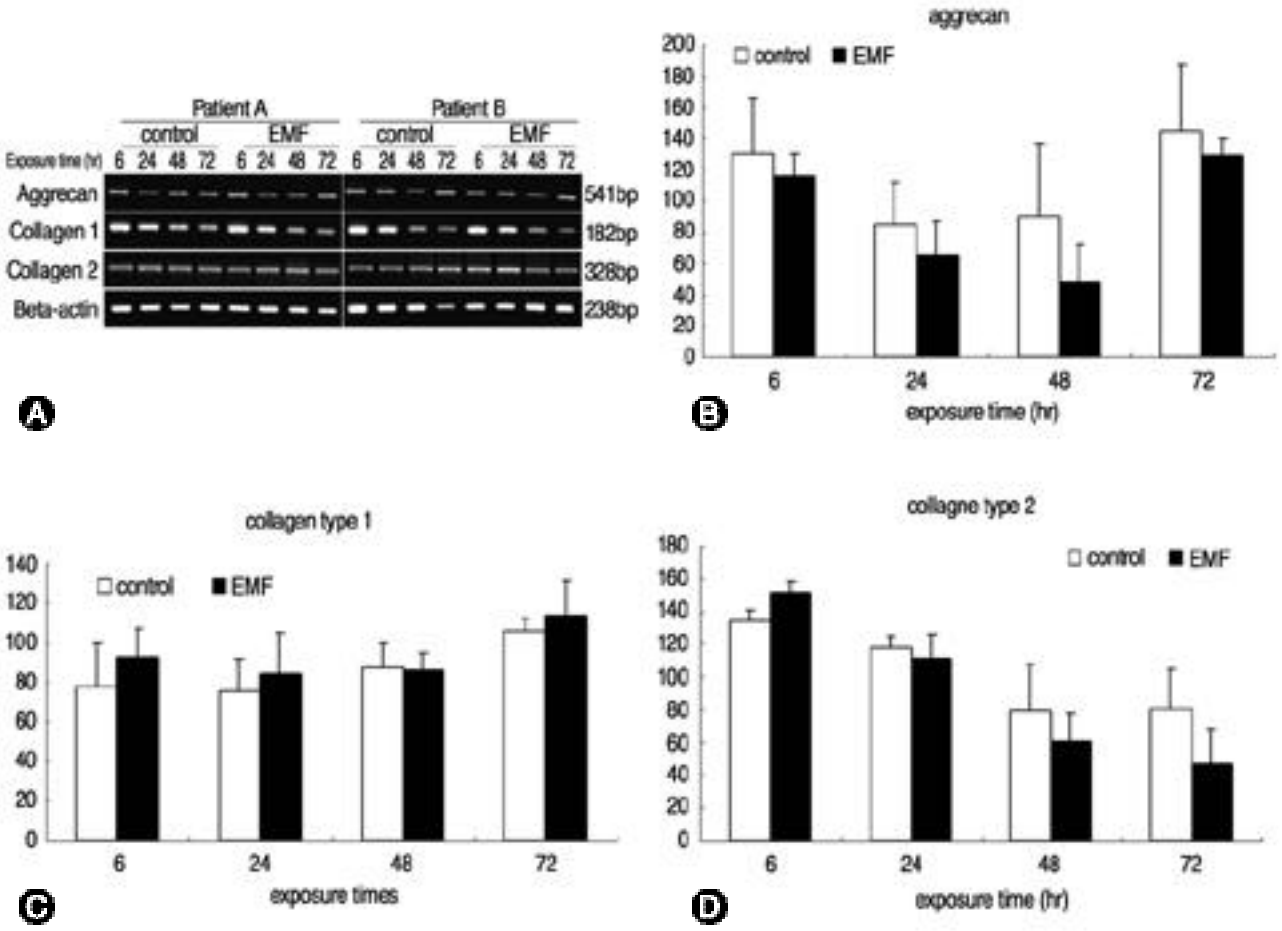

Fig. 4. Effect of EMF on the expression of aggrecan and collagen type Ⅰ, Ⅱ. A; The IVD cells were exposed to various times of EMF. Total RNA was isolated from cells and subjected to RT-PCR. A; The PCR products were separated on 2% agarose gels containing ethidium bromide, and then observed on an ultraviolet transilluminator. B, C, D; The expression of each band seen in A was quantified using an image analyzer. The results are presented as the percentage of the mRNA level relative to βactin for each band.

체외에서 이용할 수 있다는 것이다.

전자기장의 위험한 효과중 하나는 과다한 세포 증식 반응으로 신생 종양을 형성할 수 있는 가능성인데[5, 10] 본 연구에서 인간의 추간판 세포에 대한 전자기장의 세포 증식 반응은 종양을 형성할 만큼 수배의 증가는 관찰되지 않았으며 더욱이 세포 독성도 없는 것으로 증명되어 추가적인 안정성 연구가 필요는 하겠지만 본 연구의 결과로는 전자기장이 추간판 세포에 안전하다고 유추할 수 있었다.

향후 진행해야할 연구는 전자기장에 의한 세포 증식 반응의 기전과 전자기장 과다 조사 시 세포 독성 뿐만 아니라 세포 사멸의 여부도 자세히 연구해야 할 것이다.

결 론

본 연구의 결과는 저 파동성 저에너지 전자기장이 인간 추간판 세포의 DNA합성을 자극하는 효과는 가지고 있으나 세포 독성 반응은 없었으며 연골성 표현형 발현의 감소가 있었다. 결론적으로 전자기장 노출은 인간 척추 추간판 재생에 다른 생물학적 수단과 함께 제한적으로 사용되어질 수 있으리라 생각된다.

참고문헌

1) **Fontanesi G, Dal Monte A, Rinaldi E, et al**: *The effect of low frequency pulsing of an electromagnetic field for the treatment of congenital and acquired pseudoarthrosis. J Bioelectricity 1984; 3:155-175.*
2) **Traina GC, Fontanesi G, Costa P et al**: *Effects of elec - tromagnetic stimulation on patients suffering from non-union. A retrospective study with a control group. J Bio - electricity 1991; 10:101-117.*
3) **Brighton CT**: *Advanced clinical applications of electro - magnetic field effects: bone and cartilage. In: Brighton CT,Pollack SR (eds) Electromagnetics in biology and medicine. San Francisco Press, San Francisco, pp 293-308 1991.*
4) **Guizzardi S, Di Silvestre M, Govoni P, Scandroglio R**: *Pulsed electromagnetic field stimulation on posterior spinal fusions: a histological study in rats. J Spinal Disord 1994; 7:36-40.*
5) **Goodman EM, Greenebaum B, Marron MT**: *Effects of electromagnetic fields on molecules and cells. Internation - al Rev Cytol 11995; 58:279-338.*
6) **Hinsenkamp MG, Rooze MA**: *Morphological effect of electromagnetic stimulation on the skeleton of fetal or newborn mice. Acta Orthop Scand(suppl) 1982; 196:39-50.*
7) **Smith RL, Nagel DA**: *Effects of pulsing electromagnetic fields on bone growth and articular cartilage. Clin Orthop 1983; 181:277-282.*
8) **Diniz P, Soejima K, Ito G**: *Nitric oxide mediates the e.ffects of pulsed electromagnetic field stimulation on the osteoblast proliferation and differentiation. Nitric Oxide 2002; 7:18-23.*
9) **Chang K, Chang WHS**: *Pulsed electromagnetic fields prevent osteoporosis in an ovariectomized female rat model: A prostaglandin E2-associated process. Bioelec - tromagnetics 2003; 24:189-198.*
10) **Libo AR, Williams TJ, Strong DM, Wistar RJ**: *Time varying magnetic fields: Effect on the DNA synthesis, Sci - ence 1984; 223: 818-819.*
11) **Shomura K**: *Effects of pulsing electromagnetic field on the proliferation and calcification of osteoblast-like cell line, MC3T3-E1, J. Jpn. Orthod. Soc. 1997; 56: 211-223.*
12) **Hambly MF, Mooney V**: *Effect of smoking and pulsed electromagnetic fields on intradiscal pH in rabbits. Spine 1992; 17(Suppl):S83-85.*
13) **McLeod KJ, Donahue HJ, Levin PE, Fontaine MA, Rubin CT**: *Electric fields modulate bone cell function in a density-dependent manner. J Bone Miner Res 1983; 8:977-984.*

국 문 초 록

연구계획: 실험자 연구

연구목적: 저 파동성 전자기장에 대한 인간 추간판 세포의 생물학적 반응을 알아보기 위함.

연구배경: 전자기장은 세포 증식, 합성, 성장인자의 분비 및 세포내 전사조절 등 생체 내의 다양한 생물학적 반응을 조절한다고 알려져 있다. 또한 불유합 지연유합 혹은 척추 유합술에서의 전자기장은 효과적으로 골형을 유도하였다. 더구나 척추 추간판 조직에 대한 연구로서는 흡연에 의한 추간판 변성 변화가 전자기장에 의해 역전될 수 있음이 보고 된 적 있었다.

연구대상 및 방법: 요추부 추간판 탈출증 환자에서 추간판 제거술시 채취한 추간판 세포를 분리하여 alginate bead를 이용한 3차원 배양을 하였다. 배양한 추간판 세포에 다양한 시간별로 저 파동성 전자기장(650Ω, 1.8militesla magnetic flux density, 60 Hz sinusoidal wave)을 조사하였다. 세포 독성은 MTT assay, 당단백 생성은 [35S]-sulfate incorporation과 DNA생성은 [3H]-thymidine incorporation으로 분석하였으며 aggrecan, 제 1형 교원질, 제 II형 교원질 mRNA 발현은 RT-PCR에 의한 densitometric assay로 분석하였다.

결과: 전자기장 조사에 의한 세포독성은 나타나지 않았다. 전자기장에 의해 세포 증식력은 증가하였으나 DNA합성으로 정량화한 당단백은 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 연골성 표현형인 aggrecan(48시간 조사)과 제II형 교원질(72시간 조사) mRNA 발현은 대조군과 비교하였을 때 감소함을 나타내었다.

결론: 전자기장이 인간 추간판 세포의 DNA합성을 자극하는 효과는 가지고 있으나 연골성 기질생성은 감소시킴을 알 수 있었다.

색인단어: 저 파동성 전자기장, 추간판, 당단백, 기질생성

※ **통신저자 :** 이 환 모
서울시 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 정형외과학교실
Tel: 82-2-361-5648 Fax: 82-2-363-1139 E-mail: hwanlee@yumc.yonsei.ac.kr