

LED를 활용한 in-vitro 피부 창상 치유 기초연구

장원진 · 김도윤 · 류연주 · 박수진 · 이연진 · 최세운*

국립금오공과대학교

A Basic Study on *in-vitro* Wound Healing Effect Using LED

Won-jin Jang · Do-Yun Kim · Yeon-ju Ryu · Su-jin Park · Eonjin Lee · Se-woon Choe*

Kumoh National Institute of Technology

E-mail : wkddnjswlsk@kumoh.ac.kr / kimdy1205@kumoh.ac.kr / 20190393@kumoh.ac.kr /

pr30169@kumoh.ac.kr / eonjin@kumoh.ac.kr / sewoon@kumoh.ac.kr

요 약

본 논문에서는 세포에 창상을 가했을 때, LED를 활용하여 그 회복 능력을 확인하는 기초연구를 수행하였다. 6-well plates에 fibroblast를 배양하여 창상을 형성하고, 특정 파장의 LED를 조사하여 Matlab 이미지 처리를 통해서 창상 치유효능을 확인한다. 실험 결과, LED를 조사한 경우의 fibroblast가 더 빠른 속도로 회복되는 것을 확인하였다.

ABSTRACT

In this study, a basic study was conducted to confirm the wound recovering ability using LEDs. After cultured fibroblast on 6-wells we formed a wound. Here, LEDs of a specific wavelength are irradiated and check the wound healing through Matlab image processing. As a result, it was confirmed that fibroblast recovered faster when LED was irradiated.

키워드

Fibroblast cells, LED, Phototherapy, Wound healing

I. 서 론

LED는 파장에 따라 발광 색과 피부 침투 정도가 달라지는데, 특히 630nm에서 650nm의 파장대는 붉은색을 발현하고 피부 진피조직까지 침투하여 콜라겐 단백질이 자극을 받아 콜라겐 생성을 돕는다. 또한, 피지선 활성화를 통해 염증 및 상처 치료에 사용되기도 한다. 800nm에서 900nm의 파장대는 적외선 영역으로 피부에 가장 깊이 침투하여 멜라닌 색소를 억제하고 피부재생을 활성화하는 기능이 있으며, 세포 온도를 높이고 통증 완화에도 사용된다 [1].

선행 연구를 살펴보면 LED 조사가 상처 치료에 도움이 된다는 결과가 제시되어 있다. 마우스의 자

상에 630nm의 OLED를 조사하여 경과를 살펴볼 때 대조군(자연치유)보다 실험군에서 상처 부위에서 더 빠른 회복을 보였다 [2]. 마우스의 자상에 632nm, 870nm, 632nm와 870nm의 복합 LED를 다양한 시간별로 조사하여 그 경과를 살펴본 결과, 대조군(자연치유)보다 실험군에서 회복 속도가 빨랐으며 그중 632nm와 870nm를 함께 조사한 복합 파장이 가장 빠른 회복을 보였다 [3].

본 연구에서는 상처 치료를 위해 사용된 기존의 방법인 레이저 기술의 단점을 보완하고 상처 치료보다는 피부 재건을 위한 LED의 목적을 치료용으로 변경하고자 한다 [4]. 또한, 레이저를 활용한 이러한 기술은 가정에서 활용하기에 어려움이 있으며 비용적 측면에서도 부담이 될 수 있다 [5]. 섬유아 세포에 멸균 면봉과 피펫 팁을 활용하여 상처를 인위적으로 형성하고 630nm 파장대의 LED를 조사

* corresponding author

하여 그 효과를 정량적으로 평가하고자 한다. LED의 정량적 창상 복원 효과를 위해 현미경으로 세포 이미지를 획득한 후 Matlab을 이용하여 상처 사이의 간격과 세포가 차지하는 면적을 분석하고 LED의 창상 치료 효과를 시각화하고자 한다.

II. 실험 내용

2.1. 상처 형성 기법

본 실험은 섬유아세포의 상처가 회복하는 과정을 관찰하는 것을 목적으로 하므로 섬유아세포 (fibroblast, 한국세포주은행)를 사용하여 세포를 단층으로 배양한다. 기존에 주로 사용된 피펫 팁을 사용한 스크래치 기법은 상처의 간격이 좁아 섬유아세포의 회복과정을 수일에 걸쳐 확인하기 어려웠다. 따라서, 본 실험에서는 멸균 면봉을 사용한 스크래치 기법을 사용하였고, 6-well의 아래에 일정한 간격의 라인을 두고 이를 기준으로 상처를 형성하였다. 스크래치 기법의 경우 완전한 형태의 상처를 만들기 어렵고 세포가 굽히면서 주변의 다른 세포에 무리가 갈 위험이 있으나 이러한 부분이 실제 상처를 유사하게 재현할 수 있다고 판단하였다.

2.2. 세포 배양

섬유아세포의 배양을 위해서 DMEM (90%)과 FBS (10%)로 배합한 두 가지 배지에 노출시켰다 [6]. 그 후 세포 배양기를 활용하여 섬유아세포를 seeding 하여 배양한다. 세포가 플라스크 내부에 약 80%를 차지하면 6-well plates에 계대한다. 각 well에 섬유아세포가 단층으로 형성되면 실험을 진행한다.

2.3. 광 자극 인가

피부 침투율이 좋고, 재생에 도움이 될 수 있는 파장인 630nm에 해당하는 빨간색 LED를 사용하였다. 3D 프린터로 광 자극 실험을 위한 본체를 제작하여 그 위에 fibroblast가 담긴 6-well plate를 매일 30분간 10일 동안 조사하였다.

2.4. 창상 면적 분석

Matlab을 사용하여 획득한 영상을 차례대로 binary화 하고, 얻은 이진 영상에서 세포 부분의 면적을 픽셀로 구하여 전체 픽셀에서 세포 부분이 차지하는 면적의 비율을 계산한다. 이 비율을 날짜별로 정리하여 창상 이후의 세포 면적 변화비를 확인할 수 있으며, 멸균 면봉과 피펫 팁을 이용하였고 day 0부터 day 10까지 각각 원본 이미지와 binary 이미지를 구분하였다. 그림1에서 이진화된 이미지의 세포 boundary는 붉은 선으로 표시하였다.

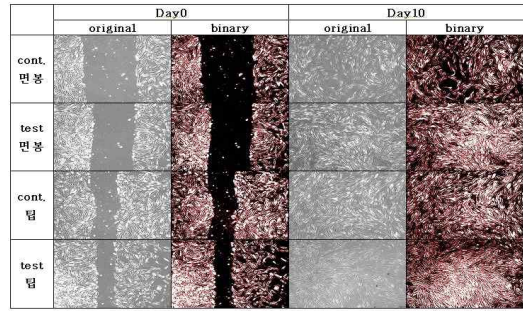


그림 1. Matlab으로 처리한 이미지의 예시

III. 실험 결과

그림 2.에서 보이는 것과 같이 면봉으로 만든 창상에서 대조군은 10일간 세포가 차지하는 면적이 약 7% 정도 증가하였고, LED를 조사해준 실험군은 약 9% 정도 증가하였음을 관찰할 수 있었다. 그리고, 팁으로 만든 창상은 대조군은 약 6%, 실험군은 약 14% 가까이 증가함을 볼 수 있었다. 또한, 추세선의 기울기(세포 회복률)를 살펴보면 면봉 창상은 대조군 0.85, 실험군 0.99로 0.14 증가하였고, 팁 창상은 대조군 0.60, 실험군 1.43으로 0.83 증가하였음을 확인할 수 있었다. 따라서 LED를 조사해 줌으로써 세포의 회복에 도움이 되었다.

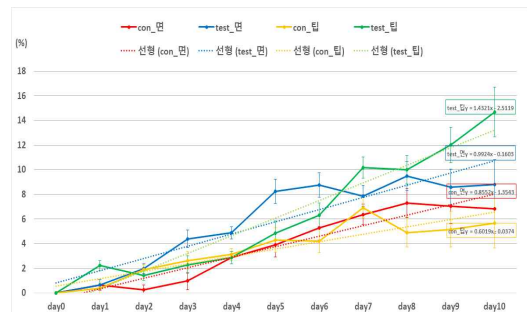


그림 2. 실험 결과 그래프

IV. 결 론

피부 조직은 손상이 발생하더라도 세포분열을 통한 회복이 가능하다. 상처 난 조직의 회복 속도를 높이기 위해서는 세포분열을 가속하고 피부 조직을 연결하는 세포의 생성을 도와주는 자극이 필요하다. 이를 돕기 위한 자극으로 LED를 선정하였는데 LED는 파장에 따라 피부 침투 정도와 효과가 다르므로 특정 파장대를 선택해야 한다. LED 파장대 중 630nm~650nm는 피부의 진피조직까지 침투하여 자극한다. 이는 섬유아세포의 생성을 돕

고 염증이거나 상처 치료에 사용된다. 이에 따라 실험을 진행한 결과 실험군의 창상 면적 증가율이 대조군보다 각각 약 2%, 8% 정도로 유의성 있게 증가함이 관찰되었다. 이러한 결과 LED 조사를 통해 섬유아세포의 활성이 촉진되었다는 것을 확인할 수 있으며, 향후 LED의 효과를 이용하여 약물과 LED를 같이 사용하거나 LED로 상처를 치료하는 등의 관련 연구를 수행할 것이다.

Acknowledgement

이 논문은 2022년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학협력기반 지역혁신사업의 결과입니다.

References

- [1] J. T. Kim, S. B. Bae and D. H. Youn, "Medical Treatment Machinery Based on LED Light Source", *Electronics and Telecommunications Trends*, Vol. 25, No.5, pp. 59-71, Oct. 2010.
- [2] S. Mo, P. Chung and J. C. Ahn, "630nm-OLED Accelerates Wound Healing in Mice Via Regulation of Cytokine Release and Gene Expression of Growth Factors", *Current optics and Photonics*, vol. 3, No. 6, pp. 485-495, Dec. 2019
- [3] K. Yoo, J. Son, H. Jo, S. Kang, S. Kang and S. Park, "Development of LED Module for Tooth Care whit Effect of Promoting Scar Treatment and Analysis of Optical Properties", *Korean Society of Interventional Cardiology*, Vol. 23, No. 4, pp. 701-708, Aug. 2020
- [4] K. Cho and S. Choe, "Development of low cost module for proliferation control of cancer cells using LED and its therapeutic effects," *Journal of the Korea Institute of Information and Communication Engineering*, Vol. 22, No. 9, pp. 1237-1242, Sep. 2018
- [5] K. Cho and S. Choe, "Basic study on proliferation control of cancer cells using combined ultrasound and LED therapeutic module," *Journal of the Korea Institute of Information and Communication Engineering*, Vol. 22, No. 8, pp. 1107-1113, Aug. 2018
- [6] K. Cho, J. Seo, and S. Choe, "Design of a customizable fluorescence detection system for fluorescently labeled tumor cells," *Journal of the Korea Institute of Information and Communication Engineering*, Vol. 23, No. 3, pp. 261-266, Mar. 2019