

저출력레이저가 성인의 치은섬유아세포의 성장양상과 미세구조에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

전북대학교 치과대학 구강진단·구강내과학교실

안 낙 현 · 신 금 백

목 차

- I. 서 론
 - II. 실험재료 및 방법
 - III. 실험성적
 - IV. 총괄 및 고찰
 - V. 결 론
- ## 참 고 문 헌

I. 서 론

치과임상에 있어 구강점막창상치료에 임해야 하는 경우가 허다함은 주지의 사실이다. 따라서 구강점막창상치료효과를 증대시키기 위한 임상적 시도 또는 다각적으로 행해지고 있는 바, 창상부위에 저출력레이저를 조사하여 그 치유를 촉진시키고자 하는 시도가 바로 그 한 예이다^{1,2)}.

그런데 이러한 시도는 저출력레이저의 생체 자극효과에 의존하고 있는 것으로 여겨지나³⁻⁶⁾, 그 효과기전에 관해서는 세포내외성분간의 이온이동촉진작용⁷⁾, Cytochrome Oxidase측면에서의 사립체(mitochondria) 기능항진작용^{8,9)}, 세포호흡과정 중 Cytochrome a를 통한 세포막 재분극에 대한 광전기적 작용⁸⁻¹¹⁾, 단백질합성에 대한 광화학적 작용^{12,13)}, RNA합성촉진작용¹²⁾ 및 DNA에 대한 공명작용^{14,15)} 등 다양하게 설명되고 있어 아직 많은 연구가 행해져야 할 것으로 사료되며, 특히 임상적으로 인정되고 있는 저출력레이저의 구강점막창상치유촉진효과를 입증해줄 만한 기전에 관해서는 더욱 많

은 자료가 요구되고 있는 실정이다. 이에 관한 최근의 문헌에 의하면 김과 김¹⁶⁾이 파장 820nm의 GaAlAs반도체저출력레이저조사에 따른 성인의 정상치은섬유아세포의 성장양상에 관한 연구를 통해 단백질합성이 증가되었음을 보고한 바 있고, Pourreau-Schneider 등¹⁷⁾이 파장 632.8nm의 He-Ne레이저조사에 따른 성인의 정상치은섬유아세포의 성장양상과 미세구조변화양상에 관한 연구를 통해 세포수가 증가되었으며 또한 미세구조성분상의 기능이 항진되었음을 보고한 바 있으며, Skinner등¹⁸⁾이 GaAs반도체저출력레이저조사에 따른 배양된 인간배아섬유아세포의 교원질(Collagen) 생산에 관한 연구를 통해 생산이 촉진되었음을 보고한 바 있다. 그러나 이들 선학들의 연구에 있어 섬유아세포에 조사된 레이저의 파장과 에너지밀도에 차이가 있었음에도 불구하고 유사한 광자극효과를 나타냈다는 점에서 이에 관한 검증이 요구된다고 사료되며¹⁹⁾, 나아가 이들 선학들의 연구가 성인의 정상치은섬유아세포에 대해서만 시행되었고, 연구내용에 있어서도 세포성장양상과 세포미세구조양상을 동시에, 다각적으로 평가하지 않은 점에서 저출력레이저의 구강점막창상치유촉진효과기전을 입증함에 있어 개연성(蓋然性)이 다소 결여되어 있다고 사료된다.

따라서 저자는 이러한 점에 착안하여 치과임상에서 흔히 접하는 구강점막창상병소에 대한 저출력레이저의 치유촉진효과기전을 세포생물학적 수준에서 보다 개연성 있게 입증하고자

성인의 치주염이환치은조직으로부터 결체조직 치유과정 중 기간세포로 활동하는 치은섬유아세포를 배양, 파장 830nm의 GaAlAs반도체저출력레이저를 조건별로 조사 처리한 후, 세포성장율, 단백질 함량 및 DNA함량 측정을 통한 세포성장양상을, 그리고 동시에 투과전자현미경적 관찰을 통한 세포미세구조변화양상을 평가하였던 바 다소의 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 치은섬유아세포배양

전신적으로는 건강하나 치주염징후가 있는 성인 남자의 지치후방치은조직을 통상의 생검법에 의해 채취하여, Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, Gibco)에 세정, 혈액을 제거한 다음, 1mm³ 이하의 크기로 잘게 절편을 만들었다. 이어 이들 조직절편을 800rpm으로 5분간 원심분리한 후 배지를 흡인, 제거한 다음, 37°C의 0.25% trypsin-1mM EDTA에서 30분간 서서히 교반하였다. 여기에 fetal bovine serum(FBS)을 최종농도 20%가 되도록 첨가한 다음 원심분리하여 상청액을 제거하였다. 침전된 세포피에 10% FBS, penicillin 100 units/ml, streptomycin 100 µg/ml(Sigma) 및 Fungizone 2.5 µg/ml(Gibco)가 포함된 DMEM으로 재현탁시켜 조직배양용접시에 옮긴 다음 37°C, 5% CO₂에서 배양시켰다. 하루 후 Fungizone이 포함되어 있는 배양액을 제거하고 20% FBS, 그리고 penicillin과 streptomycin이 위와 동일한 농도로 포함된 DMEM을 첨가, 배양하였으며, 두번째 계대가 될 때부터는 FBS농도를 10%로 낮추었다. 첫번째 계대에서는 섬유아세포와 상피세포가 혼합되어 자라있었으므로 differential trypsinization을 통해 조직배양접시로부터 좀 더 용이하게 떨어지는 섬유아세포와 그렇지 않은 상피세포를 구분함으로써 계대가 거듭됨에 따라 점차 순수한 섬유아세포만을 선택할 수 있었으며, 본 실험에서 사용한 섬유아세포는 5-7계대 사이의 섬유아세포에 해당하였다(Fig. 1). 한편 배양액은 3일에 한번씩 교환하였으며, 6일에 한번씩 계대를 넘겼다.

유아세포에 해당하였다(Fig. 1). 한편 배양액은 3일에 한번씩 교환하였으며, 6일에 한번씩 계대를 넘겼다.

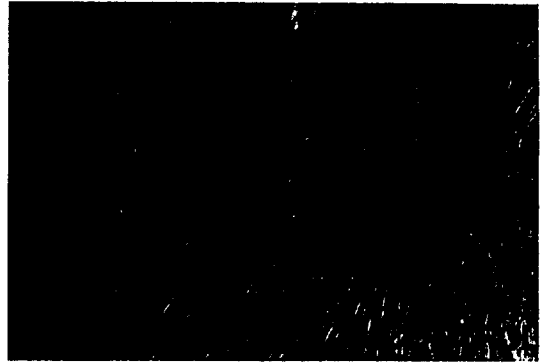


Fig. 1. A photomicrograph of human gingival fibroblasts reveals a typical finding of confluent monolayer of spindle shaped-fibroblasts under a phase-contrast inverted microscope. X 350

2. 저출력레이저장치

본 실험에서 사용한 저출력레이저장치는 파장 830nm, 레이저조사구출력 15mW의 GaAlAs반도체저출력레이저장치인 SEMICON LASER MR-180(Sharp Corp., Japan, Fig. 2)이었다.

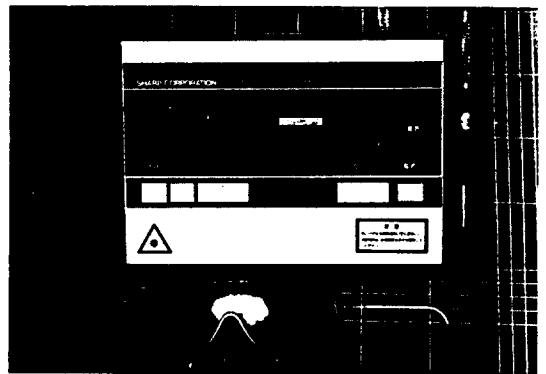


Fig. 2. SEMICON LASER MR-180(Sharp Corp., Japan) : GaAlAs diode, 830nm, 15mW

3. 세포성장을 분석

저출력레이저조사에 의한 치은섬유아세포의 세포성장을 분석하기 위해 먼저 5-7계대에 해당하는 섬유아세포를 trypsin처리하여, 세포배양액으로 현탁시킨 다음 800rpm으로 5분간 원심분리한 후 상청액을 제거하였다. 이어 배양액내의 phenol red에 의한 레이저흡수를 방지하기 위하여 phosphate buffered saline(PBS)으로 재현탁시켜 수개의 microtube로 옮긴 후 원심분리함으로써 실험을 위한 세포피를 만들었다. 다음 준비된 치은섬유아세포의 세포피를 실험A군(Group I-IV)과 실험B군(Group V-VII)으로 나누었으며, 실험 첫번째 날 각 실험군당 세포수는 실험A군(Table 1)의 경우 각각 3×10^5 cells/35mm dish로, 그리고 실험B군(Table 2)의 경우에는 각각 1.2×10^5 cells/35mm dish로 조정하였다.

(1) 실험 A

레이저조사를 시행하지 않은 Group I의 경우 동일 실험조건에서 세포의 in vitro 성장을 분석하고자 실험시작 3,7,11,14일째의 세포수를 근거로 실험 14일째까지의 세포성장을 측정하였다. 한편 Group II의 경우에는 실험 첫번째 날 전기한 저출력레이저를 10분간¹⁷⁾ 조사한 후 Group I에서와 같은 내용의 세포성장을 측정하였으며, Group III의 경우엔 1 flash후 통법에 의해 배양하다가 실험 7일째에 trypsin처리하여 첫번째와 동일한 방법으로 두번째 레이저조사를 시행한 후 실험 14일째까지 배양하면서 Group I에서와 같은 내용의 세포성장을 측정하였다. 그리고 Group IV의 경우에는 1 flash와 2 Flashes후 실험 11일째에 trypsin처리하여 세번째 레이저조사를 시행, 실험 14일째까지 배양하면서 Group I에서와 같은 내용의 세포성장을 측정하였다.

(2) 실험 B

레이저의 반복조사가 일회조사에 비해 효과적이지를 동일조건에서 정확하게 관찰, 분석하고자 실험시작 당일 모든 실험군의 치은섬유아세포수를 동일하게(1.2×10^5 cells/35mm dish) 조정, 처리하여 실험 B를 시행하였다.

레이저조사를 시행하지 않은 대조군으로서의 Group V의 경우 실험시작 4, 7, 11일째의 세포수를 근거로 실험 11일째까지의 세포성장을 측정하였다. 한편 Group VI의 경우에는 실험 첫번째 날 전기한 저출력레이저를 10분간 조사한 후 Group V에서와 같은 내용의 세포성장을 측정하였으며, Group VII의 경우에는 실험 시작 3일전에 미리 1 flash를 시행한 후 실험 첫번째 날에 두번째 레이저조사를 시행하여 Group V에서와 같은 내용의 세포성장을 측정하였다.

한편 실험 A, B에서의 섬유아세포수의 계산에 있어서는 hemocytometer를 이용하였으며, 모든 실험을 triplicate로 시행하였다.

4. 단백질정량 및 SDS-PAGE

치은섬유아세포의 단백질정량을 위해 먼저 1% Nonidet P-40/5mM EDTA/20mM Tris-HCl (pH8.0)으로 구성된 lysis buffer에서 얼림과 녹임을 반복함으로써 세포막을 용해하였다. 단백질정량은 Lowry²⁰⁾의 방법을 따랐으며, 표준시료로는 Bovine Serum Albumin(Sigma)을 사용하였다. 즉 용액 A(10% Na_2CO_3 in 0.5N NaOH)와 용액 B(1% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 및 용액 C(2% potassium tartrate)를 15 : 0.75 : 0.75로 혼합한 용액 1ml를 시료 1ml와 섞어 상온에서 15분간 반응시킨 후, 0.2N Folin-Phenol 용액 3ml와 잘 혼합하여 상온에서 45분간 반응시킨 후 파장 660nm에서 흡광도를 측정, 표준시료로 계산된 표준곡선에 적용시켜 단백질을 정량하였다.

한편 치은섬유아세포의 총단백질분획비교를 위해 Laemmli²¹⁾의 방법을 따라 3% stacking gel과 7.5% separating gel을 포함한 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)를 시행하였다. Gel의 염색은 Silver Stain과 Coomassie brilliant blue stain으로 하였다.

5. DNA 정량

PBS로 세척한 치은섬유아세포피를 $20 \mu\text{l}$ 의 cell lysis buffer(50mM EDTA, 0.2% SDS)에 용해시켜 2ml의 Hoechst 33258 $0.1 \mu\text{g/ml}$ TNE

buffer(10mM Tris, 1mM EDTA, 0.1M NaCl, pH 7.4)를 첨가, 잘 혼합한 후, 이때 발광되는 형광도를 TKO Mini Fluorometer로 파장 460nm에서 측정함으로써 치은섬유아세포의 DNA를 정량하였다.

6. 투과전자현미경적 관찰

저출력레이저조사에 의한 치은섬유아세포의 미세구조변화양상을 평가하기 위해 전기한 실험A군(Group I-IV)의 치은섬유아세포를 역광현미경으로 관찰한 후 다음과 같은 방법으로 투과전자현미경적 관찰을 시행하였다.

즉 배양된 섬유아세포를 원심분리하여 세포 압착피상대로 만든 후^{22,23)}, 각 군별 섬유아세포괴를 해당 조직배양용접시내에서 상온의 PBS로 부드럽게 2회 세정하여 0.1M cacodylate buffer(pH=7.4, EMS, 12300)로 희석된 2% glutaraldehyde(4°C, EMS, 16220)로 1시간 동안 전고정(前固定)한 후, 1% osmium tetroxide(4°C, EMS, 19100)로 1시간 동안 후고정(後固定)하였다. 고정된 세포괴를 각 단계의 ethanol을 거쳐서 탈수하였고, 70% ethanol과정 이후에는 원심분리관에 넣어서 처리하였다. 탈수된 세포괴를 propylene oxide(EMS, 910612)로 청명한 후, 세포괴를 만들어 propylene oxide와 epoxy resin(EMS, 14900)의 1대1 비율에서 1시간, 1대3 비율에서 2시간 그리고 epoxy resin(EMS, 14900)에서 24시간 적용하고, 이어서

새로운 epoxy resin(EMS, 14900)으로 교환하여 35°C에서 12시간, 45°C에서 12시간 그리고 60°C에서 24시간 경화시킨 후 극세포박절기(Ultracut E, Reichert-Jung Co., Austria)를 이용하여 60nm정도의 두께로 박절한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 대조염색한 후 투과전자현미경(BIO sysTEM 1200 EXII, JEOL Ltd., Japan)으로 관찰하였다.

Ⅲ. 실험성적

1. 세포성장율

(1) 실험 A

저출력레이저조사에 의한 치은섬유아세포의 세포성장율변화를 알아보기 위하여 경시적 세포성장속도를 단위기간으로 나누어 각 단위기간동안의 세포수증가율을 Group I(대조군)의 세포수증가율에 대한 백분율로 산출, 표시하였다. 실험 A의 결과(Table 1)에 의하면 Group II의 경우 레이저조사후 3일간은 세포성장율이 대조군에 비해 86%로 성장속도가 감소되었으나, 3-7일 사이에 165%로 급증되었다가 그 이후 다시 감소되는 복잡한 양상을 보임으로써, 레이저조사후의 시간경과에 따라 세포성장율이 매우 큰 폭의 변화를 나타냈다. 그리고 Group III의 경우에는 두번째 레이저조사후의 세포성장율이 대조군에 비해 36%로, Group II에 비해 더욱 큰 폭으로 감소되었다. 그러나 Group

Table 1. Effect of GaAlAs laser treatment on in vitro growth rate of human gingival fibroblasts

Group	Treatment	Day After Laser Treatment				
		0	3	7	11	14
I	No Flash	100	100	100	100	100
II	1Flash	^a (F) 86	165	63	113	
III	2 Flashes	(F)		(F) 36	191	
IV	3 Flashes	(F)		(F)	(F) 175	

^a : GaAlAs laser flash

^b : $\frac{\text{cell number in Group II on day 3} / \text{cell number in Group II on day 0}}{\text{cell number in Group I on day 3} / \text{cell number in Group I on day 0}} \times 100$
(Cell number is mean of three experiments.)

V의 경우에는 오히려 3번째 레이저조사후 세포성장율이 대조군에 비해 175%로 높게 나타남으로써, Group II 및 Group III와는 다른 변화를 나타냈다. 그리고 Fig. 3은 Group II의 레이저조사후의 경시적 세포수변화를 대조군과

비교해 나타낸 graph로서, 레이저조사후 3-7일 사이에 세포수가 대조군에 비해 통계학적으로 유의한 수준의 높은 값으로 급증되었음을 보여주었다.

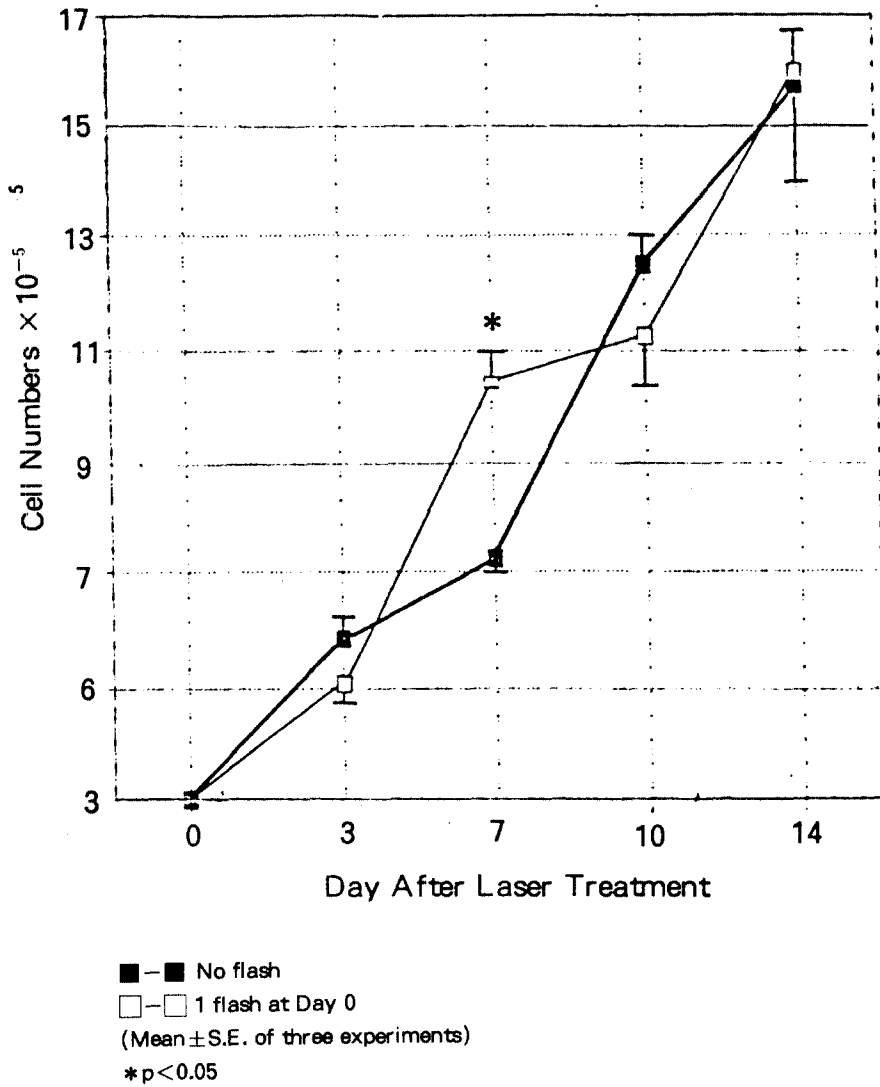


Fig. 3. Comparison of cell number increments during total experimental period of 14 days between control and GaAlAs laser-treated gingival fibroblasts

(2) 실험 B

Table 2에 의하면 Group VI의 경우 실험 A의 결과(Table 1)와 거의 유사한 양상을 나타냈다. 즉, 레이저조사후의 세포성장율의 감소와 이에 이은 급증, 그리고 일시적 성장지연의 과정을 밟는 것으로 재확인되었다.

한편 Group VII의 경우에는 Group VI에 비해 전체적인 양상은 유사하였으나, 두번째 레이저 조사후 더욱 뚜렷한 초기 성장감소를 나타냈다.

또한 세포수비교에 있어서 Group VII이 Group VI보다 적은 값을 나타냈다.

Table 2. Effect of multiple flashes of GaAlAs laser on in vitro growth of human gingival fibroblasts

Group	Treatment	Day After Laser Treatment				
		-3	0	4	7	11
V	No Flash	—	1.5	^a 4.53 ±0.17	13.59 ±0.10	39.32 ±1.44
			^b 100	100	100	
VI	1 Flash	—	1.5	3.57 ±0.16	17.67 ±0.09	37.50 ±0.96
			^c Ⓣ	79	165	73
VII	2 Flashes	—	1.5	1.93 ±0.11	9.34 ±0.17	^d e31.75 ±0.97
		Ⓣ	Ⓣ	43	161	118

^a : cell numbers x 10⁻⁵

(Mean ± S.E. of three experiments)

^b : growth rate expressed as percent control

^c : GaAlAs laser flash

^d : p < 0.05, when compared with control

^e : p < 0.050, when compared with 1 flash

2. 단백질 함량 및 단백질 profile

Table 3에 의하면 치은섬유아세포당 총단백질 함량에 있어 레이저1회조사군에서 대조군에 비해 유의한 변화를 보이지 않았으며, 수회 반복된 레이저조사군에서도 대조군과 유사한 함량을 나타냈다.

그러나 Fig. 4에 의하면 세포단백질의 Profile에 있어 큰 변화를 나타냈다. 즉, 레이저 조사 직후에는 어떤 종류의 단백질들이 다른

단백질에 비하여 상대적으로 크게 감소하는 양상을 나타냈으며, 레이저조사후 1일째에는 더욱 극단적인 변화를 나타냈다. 그러나 레이저 조사후 3일째에는 대조군보다 더 뚜렷한 band 들을 보였다가, 7일째에는 대조군과 거의 같은 정도의 양상을 나타냈다.

Table 3. Effect of GaalAs laser treatment on the protein content of human gingival fibroblasts

Laser Treatment	Day After Laser treatment	Protein Content(ng/cell)
No Flash	—	^a 59.3±5.5
1 Flash	3	57.7±7.2
	7	52.8±3.9
	14	62.9±8.1
	14	60.4±7.3
3 Flashes	14	60.3±5.8

^a : Mean±S.E. of three experiments

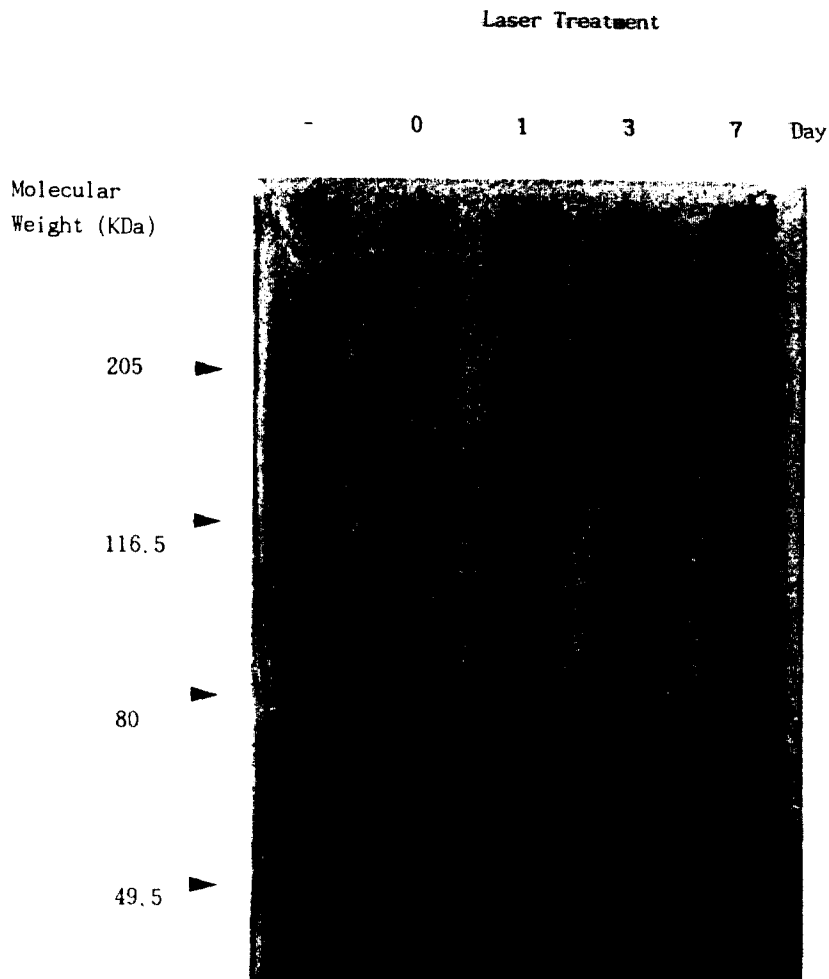


Fig 4. Effect of the laser treatment on the total protein profile of gingival fibroblast(SDS-PAGE of 7.5% separating gel). Equal amounts (40µg) proteins were loaded at each lane.

3. DNA 함량

Table 4에 의하면 치은섬유아세포당 DNA 함량에 있어 레이저1회조사군 어느 시기에서도

대조군에 비해 통계학적으로 유의한 변화를 보이지 않았으며, 수회 반복된 레이저조사군에서도 대조군과 유사한 함량을 나타냈다.

Table 4. Effect of GaAlAs laser treatment on the DNA content of human gingival fibroblasts

Laser Treatment	Day After Laser treatment	DNA Content(ng/cell)
No Flash	—	^a 0.015±0.003
1 Flash	3	0.014±0.002
	7	0.014±0.004
	14	0.013±0.004
	14	0.015±0.002
2 Flashes	14	0.015±0.002
3 Flashes	14	0.012±0.003

^a : Mean±S.E. of three experiments

4. 투과전자현미경적 관찰조건

실험 A를 대상으로 저출력레이저조사 유무 및 경과시간에 따른 각 군(Group I - IV)별 치은섬유아세포의 미세구조변화양상을 투과전자현미경적으로 관찰한 결과 다음과 같았다.

(1) Group I

실험시작 당일째의 경우 비교적 저배율(약 3,000배)의 소견상 세포질이 풍부한 방추형의 또는 불규칙하게 가지를 뻗은 형태의 섬유아세포가 관찰되었다(Fig. 5). 한편 실험시작 4일째 되는 경우 섬유아세포내에서 풍부한 조면내형 질세망(rough endoplasmic reticulum)과 사립체(mitochondria)가 관찰되었다(Fig. 6). 그러나 세포외원섬유성기질성분은 거의 관찰되지 않았다. 한편 실험시작 7일째 되는 경우에 세포외원섬유성기질성분이 일부 관찰되었으며(9Fig. 7), 실험시작 11일째 되는 경우에는 세포내소기관(organelle), 충판체양구조 및 세포외원섬유성기질성분의 증가양상이 관찰되었다(Fig. 8).

(2) Group II

실험시작 4일째 되는 경우 사립체의 증식 및 비대, 그리고 충판체양구조 및 일부 원섬유성기질성분의 출현이 관찰되었다(Fig. 9). 한편

실험시작 7일째 및 11일째 되는 경우에는 Group I의 경우에 비해 더욱 현저한 세포내소기관의 증가, 그리고 많은 분비공포와 증가된 세포외원섬유성기질성분이 관찰되었으며(Fig. 10, 11), 이러한 조건은 실험시작 11일째 되는 경우에서 더욱 현저하였다.

(3) Group III

실험시작 4일째 되는 경우 사립체의 증식 및 비대, 그리고 충판체양구조 및 세포외원섬유성기질성분의 양이 Group II의 경우에 비해 현저하였다. (Fig. 12).

(4) Group IV

사립체의 증식 및 비대, 그리고 충판체양구조 및 세포외원섬유성기질성분의 증가양상이 Group III의 경우에 비해 보다 현저하였다(Fig. 13).

IV. 총괄 및 고찰

일찌기 Carrel 등²⁴⁾, Howes 등²⁵⁾, Howes 등²⁶⁾, Howes²⁷⁾ 등이 점막이나 피부와 같은 연조직의 창상치유에 관해 연구, 보고한 바 있으며, 또한 Stearns²⁸⁾, Schilling 등²⁹⁾, Dunphy 등³⁰⁾, Ross 등³¹⁾, Grillo³²⁾, Levenson 등³³⁾, Ross 등³⁴⁾, Seddon 등³⁵⁾이 연조직창상치유과정 중 기간세

포로서의 섬유아세포의 활동에 관해 특히 교원질합성측면에서 조직병리학적 및 조직화학적으로 연구, 보고한 바 있다. 그리고 연조직창상치유촉진효과에 관해서는 Mester 등³⁶⁾, Mester³⁷⁾, Mester 등³⁸⁾, Kana 등³⁾, Bosatra 등⁴⁾, Brunner 등³⁹⁾, 한⁴⁰⁾, Cho⁵⁾, Tominaga 등⁶⁾ 등이 연조직창상병소에 저출력레이저를 조사하여 임상적측면에서 창상치유촉진효과를, 세포생물학적측면에서 교원질합성촉진과 섬유아세포활성화를 연구, 보고한 바 있다. 따라서 저출력레이저의 이러한 연조직창상치유촉진효과에 근거하여 저출력 레이저를 구강점막창상치유수단으로 응용하고자 하는 시도가 점차 확대되어가고 있는 실정이며, 그 작용기전에 관해서도 김등¹⁶⁾, Pourreau-Schneider 등¹⁷⁾, Skinner 등¹⁸⁾ 등이 연구, 보고한 바 있다. 그러나 이들 연구의 경우 구강점막창상치유에 대한 저출력레이저의 작용기전설명에 있어 개연성이 다소 미흡한 것으로 사료되어 이 점을 규명하고자 본 연구를 시도하였다.

원래 레이저(LASER)란 “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation”의 머릿글자에서 유래된 합성어로서 에너지의 유도방출에 의한 광증폭현상을 말한다^{1,2,41-44)}.

레이저는 1917년 Einstein에 의해 그 이론적근거가 제시된 이래 많은 학자들에 의해 이론적 측면에서 연구되어져 왔으며²⁶⁾, 실제적으로는 1960년 처음으로 Maiman⁴⁵⁾에 의해 루비결정을 이용한 레이저가 개발된 이후 현재 많은 여러 종류의 레이저가 개발, 활용되고 있다.^{1,2,41-44,46)}

레이저의 의학적 응용측면에서 개발초기에는 고출력레이저에 의한 임상응용이 주류였으나, 근래 Soft Laser라고도 불리는 low level laser²⁾ 즉 저출력레이저가 개발됨에 따라 새로운 응용분야가 열리고 있다. 즉 1971년 Mester 등⁴⁶⁾이 저출력레이저를 난치성 피부궤양의 치료에 응용한 것을 시작으로, 날로 그 응용범위가 확대되고 있으며, 더구나 1980년대에 들어서 반도체산업의 발달에 힘입어 반도체레이저가 실용화되면서 그 의학적 응용이 더욱 활발히 추진되고 있는 추세이다¹⁾. 한편 치과영역에서도 구강악안면부위질환의 치료효과촉진차원에서 소염, 진통 및 창상치유촉진 등의 목적으로 저출

력레이저가 응용되고 있으나^{1,2)}, 그 효과면이나 작용기전면에 관해서는 아직 논란의 여지가 많은 실정이다. 바로 이러한 논란에 있어 특히 창상치유촉진효과를 입증해줄만 한 세포생물학적 수준의 자료를 얻고자 함이 본 연구의 목적이기도 하다.

일반적으로 실험적 연구결과를 임상에 적용하기 위해서는 적절한 실험모형 특히 실험재료의 선택이 결정적으로 중요하다.¹⁷⁾ 따라서 본 연구에서도 이러한 점을 중시하여 저출력레이저의 창상치유촉진효과 유무를 판단함에 있어 중요한 단서를 제공해줄 수 있는 실험모형상의 실험재료로서 건강한 성인의 치은섬유아세포를 선택하였다. 왜냐하면 결체조직내 섬유아세포는 정상적 상태에서는 최소한의 성장을 하지만 창상치유시에는 활성화되어 증식되며, 그 결과 교원질합성이 증가되어 육아조직형성이 증진되며, 결국 창상치유가 촉진되는 것으로 알려져 있기 때문이다⁴⁸⁾. 또한 본 연구에서는 5회-7회 계대배양한 치은섬유아세포에 저출력레이저를 조사하였던 바, 이는 선행학들의 연구에서 계대수가 이른 섬유아세포를 대상으로 한 실험결과가 신뢰성과 재현성 측면에서 더 우수한 것으로 보고되었기 때문이다⁴⁹⁾.

본 연구수행상 저출력레이저조사에 따른 치은섬유아세포의 성장양상분석차원에서 세포성장율을 산출하여 대조군과 비교하였는데, 이는 실험 A의 경우 성장곡선이 지수함수를 따르기 때문에(Fig. 3) 단순히 경시적 세포수변화를 1차함수적으로 비교하는 것보다는 각 단위기간 동안의 세포수증가율을 비교하는 것이 더욱 의미가 크고 진정한 의미의 성장양상을 설명해준다고 사료되었기 때문이다. 이에 따라 Table 1-2와 Fig. 3을 총괄하건데, 저출력레이저조사에 따른 치은섬유아세포의 성장율변화양상은 레이저조사후 감소하다가 3일 이후 급증한 후 다시 휴지기를 거쳐 정상성장율로 회복되는 4단계를 밟는 것으로 평가되었다. 이러한 결과는 레이저조사후 경시적으로 지속적인 세포성장을 나타냈다고 한 Pourreau-Schneider 등¹⁷⁾의 연구결과와는 부분적으로 상이하였던 바, 특히 본 연구에서 레이저조사후 3일째까지 치은섬유아세포의 성장율이 일시 감소된 것은 레이저조사시간이 길어 결과적으로 에너지밀도가

과도했던데서 연유된 세포손상 때문으로 사료된다. 반면 레이저조사 3일 이후 치은섬유아세포의 성장율이 증가된 것은 세포손상으로부터 벗어난 섬유아세포들에서 세포분열주기상 자세포가 G₀ phase나 G₁ phase로 중간진입하였거나 또는 세포분열주기가 감소되었기 때문으로 사료되며⁵²⁻⁵⁴), 이는 대부분의 세포에 있어 세포주기의 장단이 G₁ phase길이의 차이에서 비롯되고^{53,54}), 특히 G₀ phase의 유지 여부는 해당 세포와 외적환경과의 관계에서 결정된다는 점에서 더욱 그러하다^{50,51}), 또한 저출력레이저조사에 의해 섬유아세포수가 증가된 것은 적어도 부분적으로는 세포분열주기상의 M phase 이후 세포분열주기를 이탈하여 활동이 중지된 세포들에 저출력레이저가 어떤 자극원으로 작용하여 해당 세포들이 세포분열주기로 재진입한 결과 세포증식이 촉진되었기 때문으로 사료된다⁵³⁻⁵⁶). 물론 본 연구수행상 필연적 과정 즉, 원심분리를 통한 치은섬유아세포괴에 저출력레이저를 균일하게 조사하기 위해 세포괴 trypsin 처리하여 조직배양용접시에 replating하는 과정 자체가 치은섬유아세포의 성장에 대해 일종의 자극원으로 작용하여 세포성장을 촉진시켰을 가능성을 전혀 배제할 수는 없다고 사료된다^{52,57}).

한편 저출력레이저의 중복조사효과를 분석하건데, 두번째 레이저조사 이후 나타난 세포성장율변화양상(Group III)은 첫번째 레이저조사 이후(Group II)에서와 거의 비슷하였으나, 세번째 레이저조사 직후에는 세포성장율이 175%로 성장억제가 나타나지 않았던 바(Group IV), 이는 두번째 레이저조사 이후의 급증효과가 세번째 레이저조사 직후의 억제효과와 혼합되어 나타났기 때문인 것으로 추측된다.

그런데 실험 A의 경우 저출력레이저의 중복조사에 따른 세포성장율비교시 비교대상군의 세포수가 서로 동일하지 않기 때문에 순수한 중복조사에 의한 세포성장율변화를 판단하기 어렵다는 문제점이 내포되어 있으므로^{53,58-60}), 실험 B를 통해 실험시작전에 저출력레이저를 미리 조사하여 세포성장율측정이 시작되는 단계부터는 동일한 수의 세포로 성장율을 측정, 분석함으로써 저출력레이저의 중복조사효과를 정확하게 평가하고자 하였다.

이러한 관점에서 시행된 실험 B(Table 2)를 총괄하건데, 저출력레이저의 1회 조사와 2회 조사 사이에 효과상의 질적인 차이도 없었고, 양적으로도 2회 조사가 1회 조사보다 우수하다는 소견이 관찰되지 않았으며, 오히려 실험 시작 11일째의 마지막 세포수측정에서는 통계학적으로 유의한 감소를 나타냈던 바, 이는 저출력레이저의 반복조사간격에 의한 영향일 수도 있을 것으로 추측되며, 이에 관해서는 향후 계속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

한편 본 연구수행상 저출력레이저조사에 따른 치은섬유아세포의 성장양상분석 차원에서 측정된 치은섬유아세포당 단백질함량의 변화양상(Table 3)을 총괄하건데, 저출력레이저조사 이후 섬유아세포당 총단백질함량 자체에는 경시적으로도, 그리고 조사횟수증가에서도 대조군에 비해 통계학적으로 유의한 변화가 없었다. 그러나 세포단백질 profile(Fig. 4)에서 혹종의 단백질이 레이저조사 직후 감소되었다가 3일 이후 급증되는 점, 그리고 Fig. 2에서의 성장곡선과 비교, 분석해 볼 때 사라졌다 다시 나타나는 단백질들이 성장의 결과라기 보다는 성장촉진을 유발할 수 있는 단백질 즉, 혹종의 trigger protein^{52,53})으로 추측된다. 현재 이 trigger protein은 세포내에 특정농도 이상 축적되면 세포로 하여금 G₁ phase의 특정시점(restriction point)을 넘어 세포분열을 유도하는 것으로 가정되고 있다^{52,53}).

향후 이러한 단백질들을 정확히 규명하여 분자생물학적 수준에서의 변화에 대한 저출력레이저효과를 알아냄으로써 구강점막창상치유촉진차원에서 좀더 효과적인 저출력레이저 조사방법, 그리고 나아가 실용적인 저출력레이저를 개발할 수도 있을 것으로 기대된다.

한편 실험A군(Group I-IV)에 대한 투과전자현미경적 관찰소견을 총괄하건데, 저출력레이저를 조사하지 않은 Group I의 경우 전체적으로 실험기간이 경과되면서 조면내형질세망이 풍부해지고, 사립체가 증식, 비대되는 등 세포가 점차 활성화되는 양상을 나타냈으며, 또한 세포의원섬유성기질성분이 출현하였다. 이에 비해 저출력레이저를 1회 조사한 Group II의 경우에는 전체적으로 세포활성화 및 세포의원섬유성기질성분의 출현시기가 좀 더 단축되

는 양상을 나타냈던 바, 이는 전기한 여러가지 추정기전^{50-52, 55, 56)}에 의한 저출력레이저의 세포증식촉진효과를 뒷받침해주는 근거로 볼 수 있다고 사료되며, 이러한 결과는 He-Ne저출력레이저를 이용한 Pourreau-Schneider 등¹⁷⁾의 결과와 대체로 일치하였다.

본 연구를 통한 투과전자현미경적 소견상 저출력레이저조사군의 섬유아세포에 있어 비조사군에 비해 사립체의 증식과 비대가 현저하였던 바, 이는 저출력레이저자극에 의해 사립체의 기능활성이 강화된 때문으로 사료된다⁶¹⁻⁶⁵⁾.

또한 저출력레이저조사군의 섬유아세포에 있어 비조사군에 비해 free ribosome의 증가, 그리고 사립체의 증식과 비대가 현저하였던 바, 이는 저출력레이저자극에 의해 합성이 증가된 사립체단백질의 사립체 외, 내막이동추진력이 증가된 때문으로 추측된다^{53, 58, 66)}. 또한 저출력레이저조사군의 섬유아세포에 있어 비조사군에 비해 세포외원섬유성기질성분이 현저히 증가되었던 바, 이는 저출력레이저자극에 의해 그 합성이 증가되어 세포간질공간으로 분비된 흑종의 섬유성 단백질로 추정되나, 그 유형에 관해서는 향후 조직화학적 검색이 필요할 것으로 사료된다^{33, 67-72)}.

한편 실험 A군의 실험세포 가운데 Group I에서의 실험초기세포를 제외한 나머지 실험세포들에 있어서 층판체(lamellated body)와 유사한 구조가 관찰되었던 바, 선학들의 연구⁷³⁾에 의하면 이는 섬유아세포에 의해 생산되는 기질물질인 glycosaminoglycan 또는 glycoprotein으로 추정되며, 이러한 기질물질도 교원질원섬유와 함께 저출력레이저에 의해 동일한 영향을 받는 것으로 사료된다. 그러나 전자현미경표본 제작과정중의 오염에 의한 가능성도 전혀 배제할 수 없으므로 이러한 층판체유사구조물질의 화학조성에 관해서는 향후 좀더 연구되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

저자는 임상적 측면에서 인정되고 있는 저출력레이저의 구강점막창상병소치유촉진효과를 세포생물학적 수준에서 개연성있게 입증하고자, 성인의 치주염이환치은조직으로부터 치은

섬유아세포를 통법에 의해 배양, GaAlAs반도체저출력레이저(파장 830nm, 레이저조사구출력 15mW)를 1회-3회에 걸쳐 회당 10분간 조사, 배양한 후, 3-4일 간격으로 세포성장율, 세포당 단백질 함량 및 세포당 DNA함량을 측정하여 세포성장양상을 평가하고 동시에 투과전자현미경적 관찰을 통하여 세포미세구조변화양상을 평가함으로써 저출력레이저조사처리를 시행하지 않은 대조군과 비교한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 저출력레이저조사에 따른 치은섬유아세포의 성장율변화양상은 레이저조사후 3일간은 감소하다가 이어 급증한 후 다시 휴지기를 거쳐 정상 성장율로 회복되는 단계적 변화를 보였다.
2. 치은섬유아세포의 성장촉진에 대한 저출력레이저의 순수한 증복조사효과는 3일 전후 간격의 반복조사횟수에 비례적이지 않았다.
3. 저출력레이저조사에 따른 치은섬유아세포당 단백질함량의 변화양상에 있어 섬유아세포당 총단백질함량 자체에는 대조군에 비해 유의한 변화가 없었으나, 세포당단백질 profile 면에서 세포성장촉진인자들로 추측되는 흑종의 단백질이 저출력레이저조사 직후 감소되었다가 3일 이후 급증되었다.
4. 저출력레이저조사에 따른 치은섬유아세포의 미세구조변화에 있어 동기간의 대조군에 비해 더 현저한 조면내형질세망, 사립체의 증식·비대 및 세포외원섬유성기질성분의 증가양상이 관찰되었다.

참 고 문 헌

1. 森岡俊夫, 田龍祥子: しーざの 齒科應用の歴史, しーざの 齒科への 臨床應用とその基礎, クイソテシセソス出版株式會社, 東京, 1988.
2. Kert, J. and Rose, L.: Clinical laser therapy - Low level laser therapy, Scandinavian Medical Laser Technology, Copenhagen, 1989.
3. Kana, J.S. and Hutschenreiter, G.: Effect

- of low power laser radiation on healing of open skin wounds in rats, *Arch. Surg.*, 116 : 293, 1981.
4. Bosatra, M., Jucci, A., Olliaro, P., Quacci, D. and Sacchi, S. : In vitro fibroblast and dermis fibroblast activation by laser irradiation at low energy; An electron microscopic study, *Dermatol.*, 168 : 157, 1984.
 5. Cho, B.Y. and Cho, J.O. : Experimental study on the effect of the laser irradiation in treating oral soft tissue wound, *J.Dent. Res.*, 65(4) : 600, 1986.
 6. Tominaga, R., Kuroda, T. and Yamamoto, H.I. : Effect of He-Ne laser on cultured fibroblasts of palatal wounds, *J.Dent.Res.*, 69 : (4) : 1055, 1990.
 7. Kubasova, T., Kovacs, L. and Somasy, Z. et al : Biological effect of He-Ne laser - Investigation of functional and micromorphological alterations of cell membranes in vitro, *Laser Surg, Med.*, 4 : 381, 1984.
 8. Rounds, D.E. and Olson, R.S. : The effect of the laser on cellular respiration, *Z. Zellforsch.*, 87 : 193, 1968.
 9. Bosatra, M., Jucci, A. and Olliaro, P. et al : In vitro fibroblast and dermis fibroblast activation by laser irradiation at low energy - An electron microscopic study, *Dermatologica*, 168 : 157, 1984.
 10. Rounds, D.E. and Olson, R.S. : The effect of intense visible light on cellular respiration, *Life Sci.*, 6 : 359, 1967.
 11. Olson, J.E., Schimmerling, W. and Tobias, C.A. : Laser action spectrum of reduced excitability in nerve cells, *Brain Res.*, 204 : 436, 1981.
 12. Albergel, R.P., Lam, T.S. and Meeker C.A. et al : Biostimulation of procollagen production by low energy lasers in human skin fibroblast culture, *Clin. Res.*, 32 : 567, 1984.
 13. Lam, T.S., Albergel, R.P. and Dwyer, R.M. : Biological effects of laser; Stimulation of collagen production of low energy lasers in human fibroblasts cultures, *J.Am.Soc.Laser Med. Surg.*, 3 : 189, 1983.
 14. Fine, S., Klein, E., Nowak, W. and Scott, R. E. et al : Interaction of laser radiation with biologic systems I. Studies on interaction with tissue, *Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 24 : 35, 1965.
 15. Goldman, L. : Laser action at the cellular level, *J. Am. Med. Assoc.*, 198 : 641, 1966.
 16. 김기석, 김생곤 : 치은섬유아세포(gingival fibroblast)에 대한 저출력레이저광의 효과에 관한 실험적 연구, *대한구강내과학회지*, 12(1) : 17, 1987.
 17. Pourreau-Schneider, N., Soudry, M., Remusat, M., Franquin, J.C. and Martin, P. M. : Modifications of growth dynamics and ultrastructure after helium-neon laser treatment of human gingival fibroblasts, *Quintessence*, 20 : 887, 1989.
 18. Skinner, S.M., Gage, J.P., Wilce, P.A. and Shaw, R.M. : Effect of laser radiation on collagen metabolism in cell culture, *J.Dent. Res.*, 71(4) : 981, 1992.
 19. Albergel, R.P., Meeker, C.A., and Lam, T.S. et al : Control of connective tissue metabolism by lasers - Recent developments and future prospects, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 11 : 1142, 1984.
 20. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193 : 265, 1951.
 21. Laemmli, U.K. : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄, *Nature*, 227 : 680, 1970.
 22. Hayat, M.A. : Basic techniques for transmission electron microscopy, Academic Press, Inc., Orlando, 1986.
 23. McCombs, R.M., Matilda Benyesh-Melnick, M. and J. Pierre Brunshwig, J.P. : The use

- of millipore filters in ultrastructural studies of cell cultures and viruses, *J. Cell Bio.*, 36 : 231, 1968.
24. Carrel, A. and Hartmann, A. : "Cicatriztion of wounds I. The relation between the size of a wound and the rate of its cicatriztion", *J. Exp. Med.*, 24 : 429, 1916.
 25. Howes, E.L, Sooy, J.W. and Harvey, S.C. : "The healing of wounds as determined by their tensile strength," *J.A.M.A.*, 92 : 42, 1929.
 26. Howes, E.L, Harvey, S.C. and Hewitt, C. : "Rate of fibroplasia and differentiation in the healing of cutaneous wound in different species of animals", *Arch. Surg.*, 38 : 934, 1939.
 27. Howes, E.L. : "The rate and nature of epithelization in wounds with loss of substance," *Surg. Gyn. & Obst.*, 76 : 738, 1943.
 28. Stearn, M.L : "Studies on the development of connective tissue in transparent chambers in the rabbit's ear", *Amer. J. Anat.*, 66 : 133, 1940.
 29. Schilling, J.A., Favata, B.V. and Radakovich, M. : Studies of fibroplasia in wound healing, *Surg. Gyn. & Obst.*, 96 : 143, 1953.
 30. Dunphy, J.E. and Udupa, K.V. : "Chemical and histochemical sequences in the normal healing of wounds", *New Eng. J.Med.*, 253 : 847, 1955.
 31. Ross. R., and Benditt, E.P. : "Wound Healing and collagen formation I. SEquential changes in componets of guinea pig skin wounds observed in the electron microscope", *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 11 : 677, 1961.
 32. Grillo, H.C. : Origin of fibroblasts in wound healing—An autoradiographic study of inhibition of cellular proliferation by local X-irradiation, *Annu. Surg.*, 157 : 453, 1963.
 33. Levenson, S.M., Geever, E.F., Crowlely, L. V., Oates, J.F., Berard, C.W. and Rose, J. : The healing of rat skin wounds, *Annu. Surg.*, 161 : 293, 1965.
 34. Ross, R. and Benditt, E.P. : "Wound healing and collagen formation V. Quantitative electron microscopic radioautographic observations of proline-H, utilization by fibroblasts", *J. Cell Biol.*, 27 : 83, 1965.
 35. Seddon, S.V., Walker, D.M., Garrahan, N., Williams, D. and Williams E.D.; The colonality of normal lingual epithelium, *J. Dent.Res.*, 69(4) : 978 1990.
 36. Mester, E. and Yaszagi-Nagy, E. : The effect of laser radiation on healing and collagen synthesis, *Studia.Biophysica.*, 35 : 227, 1973.
 37. Mester, E. : Stimulation of wound healing by means of laser rays(Clinical and EM study), *Acta.Chir.Acad.Sci.Hung.*, 14 : 347, 1973.
 38. Mester, E., Nagylucskay, E., Tisza, S. and Mester, A. : Stimulation of wound healing by means of laser rays—Investigation of the effect of immune competent cells, *Acta. Chir.Acad.Sci.Hung.*, 19 : 163, 1978.
 39. Brunner, R., Haina, D., Landthaler, M., Waidelich, W. and Braun Falco, O. : Applications of laser light of low power density—Experimental and clinical investigations, *Chir. Probl.Derm.*, 15 : 111, 1984.
 40. 한응렬 : 레이저췏가 구강연조직 창상치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 조선대학교, 1985.
 41. Carroll, J.M. : The story of the laser, E.P. Dutton & Co., Inc., New Work, 1970.
 42. 송강철 : 응용레이저가이드 실예와 기초, 기전연구사, 서울, 1985.
 43. 오명, 강문호 : 레이저의 응용, 청문각, 서울, 1987.
 44. 김덕원 : 의료용 레이저, 한국광학회지, 1 : 107, 1990.
 45. Maiman, T.H. : Stimulated optical radiation in ruby, *Nature*, 187 : 493, 1960.

46. Adrian, J.C., Bernier, J.L. and sprague, W. G. : Laser and the dental pulp, J.Am.Dent. Assoc., 83 : 113, 1971.
47. Mester, E. et al. : Effect of low energy rays on wound healing, Am.J.Surg., 122 : 232, 1971.
48. Ko, S.D., Narayandn, A.S. and Page, R.C. : Influence of cell cycle on collagen synthesis by human gingival fibroblasts, J.Periodont., 16 : 302, 1981.
49. Harmand, M.F., Bordevave, L. and Duphil R. et al : Human differentiated cell cultures - In vitro models for characterization of cell biomaterial interface in Christel P., Meunier A., Lee A.J(eds) : Biological and biomechanical performance of biomaterials, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1986.
50. Lajtha, L.G. : Differential sensitivity of the cell life cycle, J. Cell Comp. Physical., 62 (suppl) : 141, 1963.
51. Burns, F.J. and Tannock, I.F. : On the existence of a Go-phase in the cell cycle, Cell Tissue Kinet., 3 : 321, 1970.
52. Pardee, A.B. : A restriction point for control of normal animal cell proliferation, Proc. Nat. Acad. Sci., 71 : 1286, 1974.
53. 서울대학교 의과대학 : 세포생물학, 제2판, 서울대학교 출판부, 서울, 1991.
54. Braunwald, E., Isselbacher, K.J., Petersdorf, R.G., Wilens, J.D., Martin, J.b. and Fauci, A.S.(ed.) : Harrson's Principles of internal medicine, 11th ed., P.432, McGraw-Hill Book Co., New York, 1987.55. Baserga, R. L. : Cell division and the cell cycle in Finch C.E. Hayflick L(eds) : Handbook of the Biology of Aging, Van Nostrand Reinhold, New York, 1977.
56. Mendelsohn, M.L. : The growth fraction-A new concept applied to tumors, Science, 132 : 1496, 1960.
57. Burger, M.M. : Proteolytic enzymes initiating cell division and escape from contact inhibition and growth, Nature, 227 : 170, 1970.
58. Darnell, Lodish, and Baltimore : Molecular Cell Biology, 1986
59. Alberts,B., Bray,D., Lewis,J., Raff, M., Roberts,K. and Watson,J.D. : Molecular Biology of the Cell, 2nd ed. 1989.
60. Freshney, R.I. : Culture of animal cells, 2nd ed., ARL Co., New York, 1987.
61. 채범석 역 : 레닌제 생화학, 아카데미서적, 서울, 1987.
62. Albert,B., Bray,D., Vewis,J., Raff,M., Roberts, K. and Watson,J.D. : Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing Inc., New York, 1983.
63. Hinkle, P.C. and McCarty,R.E. : "How cells make ATP," Sci. ATP, Sci. Am., 283(3) : 103, 1978.
64. Stryer, L. : Biochemistry, 3rd ed., W.H. Freeman Co., New York, 1988.
65. Zubay,G. : Biochemistry, 2nd ed. McMillan Publishing Co., New York, 1988.
66. Alberts,B., Bray,D., Lewis,J., Raff,M., Roberts,K. and Watson,J.D. : "The endoplasmic reticulum", Molecular Biology of the Cell, 1988.
67. 정현주 : 치주조직재생 유도물질의 연구현황, 대한치주연구소주최 제2회 산학학술심포지움, 1992.
68. 김일호 : 백서의 실험적 육아조직에서 Fibronectin의 분포에 관한 면역조직화학적 연구, 치과연구, 32(2) : 67, 1992.
69. Lowenberg,B.F., Aubin,J.E. and Deporter,D. A., et al. : "Attachment, migration, and orientation of human gingival fibroblasts to collagen-coated, surface demineralized, & untreated root sites", J.Dent.Res., 64 : 1106, 1985.
70. Engel,D., Schroeder, H.E, Gay, R. and Clagett, J. : Fine structure of culture of cultured human gingival fibroblasts and demonstration of simultaneous synthesis of types I and III collagen, Arch. Oral. Biol., 25 : 283, 1980.
71. Cole, A.S and Eastoe, J.E. : Biochemistry

and Oral Biology, Toppan Co., Tokyo, 1977.
72. Lazzari, E.P. : Dental biochemistry, Lea & Febrieger Co., Philadelphia, 1968.

73. Junqueira C., Carneiro, J. and Kelly R.O. : Basic histology, Appleton and Lange, Connecticut, 1989.

Explanations of Transmission Electron Micrographs

Fig. 5. Group—1. Control

Two control fibroblasts reveal abundant, irregularly branched cytoplasm and ovoid, large nuclei (arrow).

Fig. 6. Group—1. Day 4

An active fibroblast reveals abundant rough endoplasmic reticulum(RER), mitochondria(M) and a paucity of extracellular matrix. N, Nucleus

Fig. 7. Group—1. Day 7

An active fibroblast reveals rich rough endoplasmic reticulum(RER), free ribosomes(R) and considerable extracellular fibrillar matrix(C).

Fig. 8. Group—1. Day 11

An active fibroblast reveals mitochondrial hyperplasia/hypertrophy(M), lamellar body—like structure(L) and abundant extracellular fibrillar matrix(C). N, Nucleus

Fig. 9. Group—2. Day 4

A 1 flash—laser—treated fibroblast displays rough endoplasmic reticulum(RER), mitochondrial hyperplasia/hypertrophy(M), lamellar body—like structure(L) and considerable extracellular fibrillar matrix. N, Nucleus

Fig. 10. Group—2. Day 7

A 1 flash laser—treated fibroblast reveals abundant rough endoplasmic reticulum(RER), free ribosomes(R), extracellular fibrillar matrix material(C) and lamellar body—like structure (L).N, Nucleus

Fig.11. Group—2. Day 11

A 1 flash—laser—treated fibroblast reveals mitochondrial hyperplasia/hypertrophy(M), abundant free ribosomes(R), secretory vacuoles (V), lamellar body—like structure(L) and abundant extracellular fibrillar matrix(C).

Fig. 12. Group—3. Day 4

A 2 flashes—laser—treated fibroblast reveals mitochondrial hyperplasia/hypertrophy(M), considerable free ribosomes(R), lamellar body—like structure(L) and abundant extracellular collagen fibrills(C). N, Nucleus

Fig. 13. Group—4. Day 4

A 3 flashes—laser—treated fibroblast reveals abundant rough endoplasmic reticulum(RER), mitochondria(M) and multiple strata of collagen fibrills(C), Pericellularly. N, Nucleus

안낙현 논문 사진부도

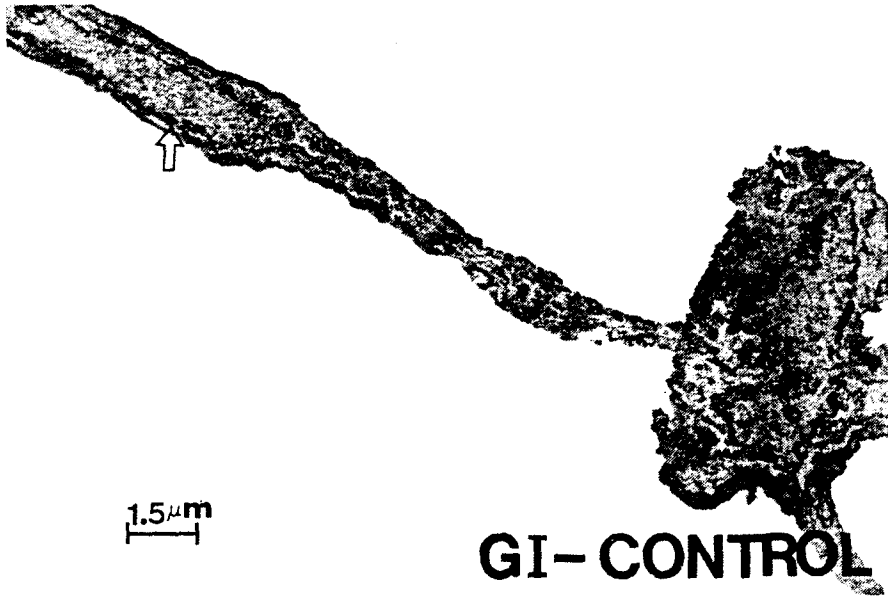


Fig. 5

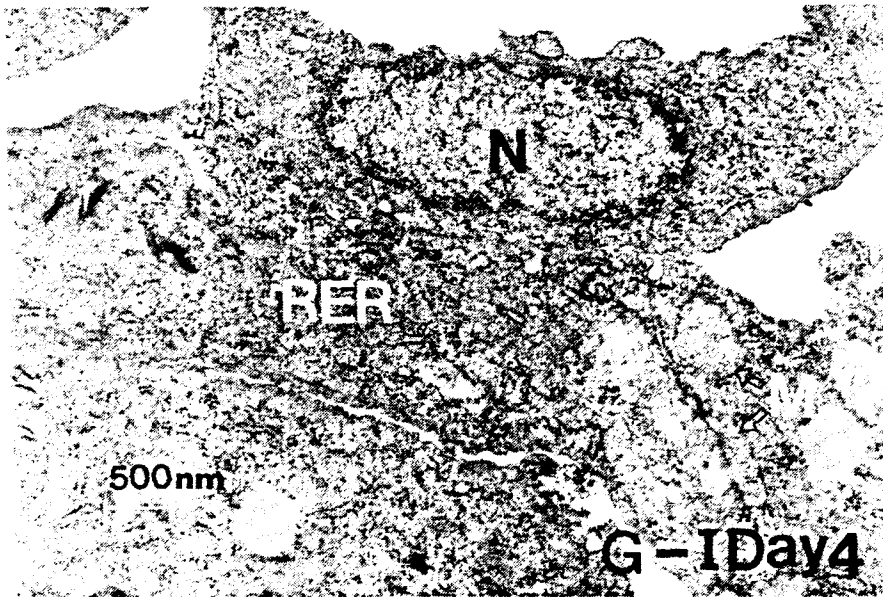


Fig. 5

안낙현 논문 사진부도



Fig. 7



Fig. 8

안낙현 논문 사진부도

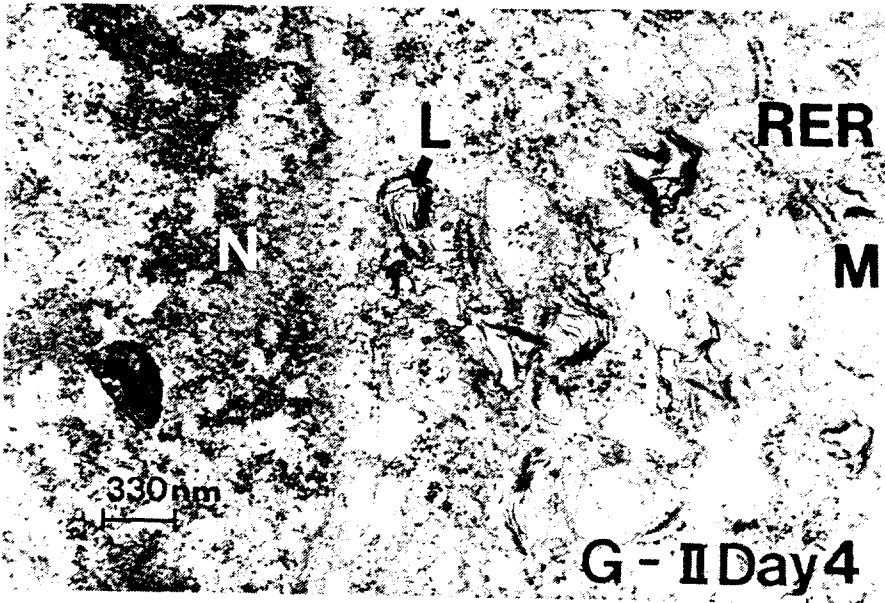


Fig. 9

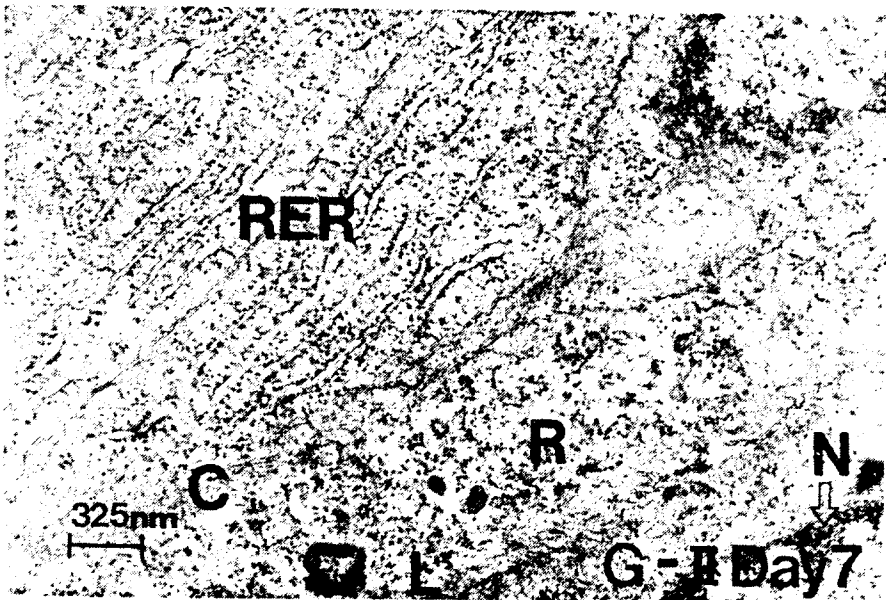


Fig. 10

안낙현 논문 사진부도

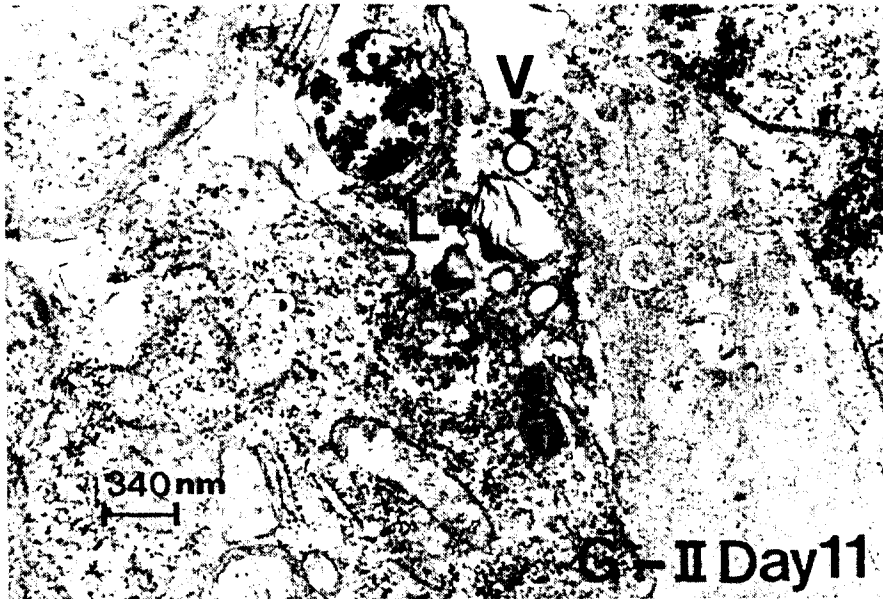


Fig. 11

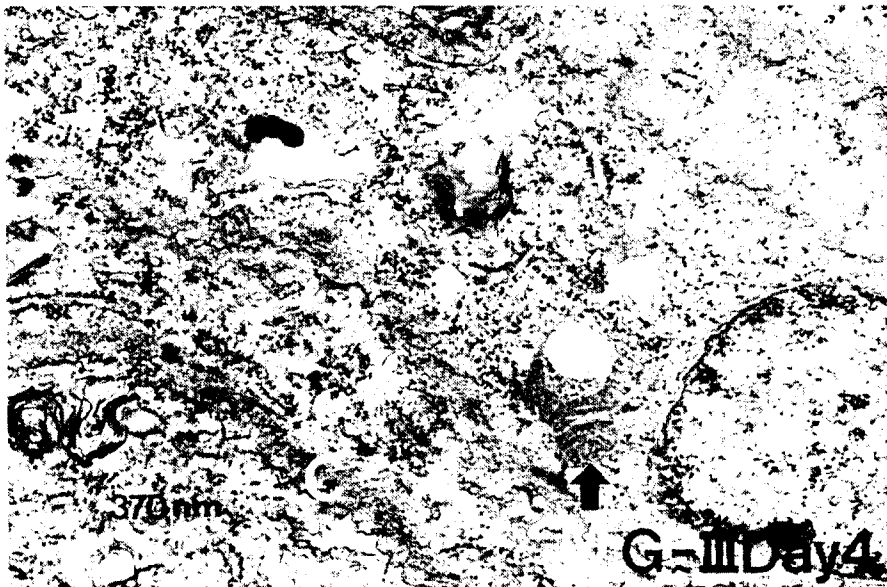


Fig. 12

안낙현 논문 사진부도

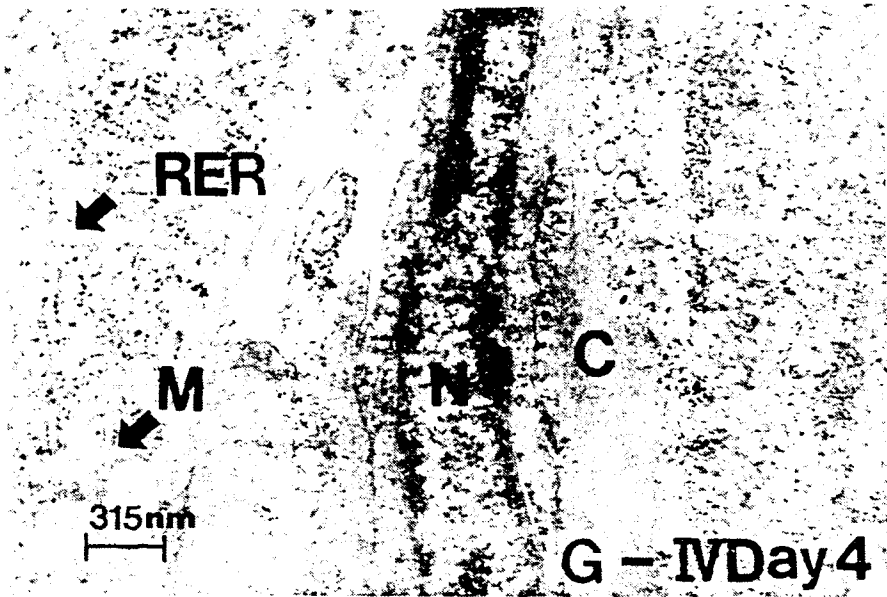


Fig. 13

An Experimental Study on Growth Pattern and Ultrastructure of Human Gingival Fibroblasts Treated by Low Level Laser

Nak-Hyun Ahn, D.D.S., M.S.D., Keum-Back Shin, D.D.S., M.S.D., Ph.D.,

Department of Dentistry, Graduate School,
Chonbuk National University

[ABSTRACT]

In order to verify the acceleration effect of low level laser (LLL) on oral mucosal wound healing process at cell biological level, the author studied growth pattern and ultrastructure in human gingival fibroblasts flashed by GaAlAs LLL-830 nm, 15 mW- for 10 minutes/flash one to three times at interval of 3-4 days through the evaluation of cell growth rate, protein content/cell, DNA content/cell and ultrastructural changes for 14 days.

The results were as follows. ;

1. The growth rate in gingival fibroblasts treated by LLL showed 4 orderly stages- decreasing stage after LLL treatment, acute increasing stage 3 days after LLL treatment, resting stage and recovering stage.
2. The effect of multiple flashes of LLL at interval of 3 days more or less was not proportional to times of flash on acceleration of growth in gingival fibroblasts.
3. The total protein content per gingival fibroblast was not significantly changed by LLL treatment in comparison with control group. But some kinds of protein which might be cell growth promoting factors were decreased immediately after LLL treatment, thereafter were acutely increased in cellular protein profile.
4. In ultrastructural changes of gingival fibroblasts treated by LLL, more prominent rough endoplasmic reticulum, mitochondrial hyperplasia/hypertrophy and increased extracellular fibrillar matrix were observed in comparison with control group under same experimental period.