

저출력레이저조사가 배양섬유아세포의 생존력에 끼치는 영향에 관한 실험적 연구

원광대학교 치과대학 구강진단·구강내과학 교실

양근영 · 한경수 · 강세숙

목 차

I. 서 론
II. 연구대상 및 방법
III. 연구 성 적
IV. 총괄 및 고찰
V. 결 론
참 고 문 헌
영 문 초 록

I. 서 론

레이저조사를 이용한 치료법이 1960년 Mai-mann¹⁾이 레이저의 의학적 응용을 보고한 이래 다방면에 걸쳐 많이 개발되어 있다. 현재 사용되고 있는 레이저는 수술용의 고출력에너지의 레이저와 주로 동통해소, 창상치유, 그리고 스포츠의학등에 까지 이용되고 있는 저출력에너지의 레이저로 대별되고 있다. 대체로 CO₂ 레이저같은 고출력레이저는 선택적으로 콜라겐 합성을 방해한다고 알려져 있으며, HeNe 레이저, GaAs레이저같은 저출력레이저는 일반적으로 생물학적 과정을 촉진시킨다고 알려져 있다²⁾. 그러나 저출력레이저조사(low level laser irradiation)의 광생물학적 작용근거나 기전에 대해서는 아직 일치된 견해나 과학적으로 정립된 사실이 없으며 주장이 다른 다양한 연구보고가 있어 왔다.

Hansson³⁾, Walker⁴⁾등은 저출력레이저 조사가

악관절동통이나 삼차신경통, 골관절염의 통통에 효과적이었다고 보고한 반면, Brockhaus 등⁷⁾, Haker 등⁸⁾, Hansen 등⁹⁾은 레이저조사가 통통의 역치를 증가시키지 못했고 위약(placebo)보다 유의한 치료효과를 나타내지 않았으며 따라서 만성 안면동통의 치료에 있어서 레이저의 조사효과를 인정할 수 없다고 하였다.

저출력 레이저의 조사효과중 세포수준에서 이루어진 연구에서도 상반된 결과가 보고되었다. 세포배양에 있어 가시광선과 적외선 영역 모두에서 적은량의 레이저 조사는 촉진작용을, 많은량은 위해작용을 나타내었다고 하며 이 중효과를 보고한 연구^{3,10)}와 함께 꿀의 재형성에 효과적이며¹¹⁾, 열상승으로 인한 부작용을 인정할 수 없다는 보고¹²⁾, 피부 섬유아세포의 증식과 함께 콜라겐 형성이 증가되었으며^{13,14)}, 세포내 효소의 활성이 증가되었다는 연구¹⁵⁾ 등 긍정적 효과만을 보고한 것도 있으나, 세포수의 증가 없이 대사율만 증가되었으며²⁾, 전구콜라겐의 생성증가는 있으나 섬유아세포의 생존능력(viability)과 미세구조물에는 변화가 없다는 등의 부분적인 효과만을 보고한 연구¹⁶⁾도 있어 연구 대상이나 방법, 사용된 기기의 종류에 따라 보고된 결과가 매우 다양하다.

저출력 레이저의 실험실적 사용이나 임상에서의 환자치료를 위한 적용등이 점차 국내에

서도 많은 주목을 받기 시작하지만 아직도 외국의 폭넓은 연구에 비하면 국내의 연구성과는 초보단계에 있는 실정이다. 이에 관한 국내 치의학 분야의 연구로는 구강내 섬유아세포와 연쇄상구균의 증식에 관한 김등¹⁷⁻¹⁹⁾의 연구와, 실험동물에서 신경 섬유의 재생에 관한 권등²⁰⁾의 보고도 있으나, 세포나 조직의 미세한 변화 까지도 감지할 수 있는 상당히 정확한 분석방법이 사용된 보다 폭넓은 연구가 아직 적어 레이저의 응용에 제한이 되고 있다.

이에 저자는 보다 개선된 분석법을 이용하여 치은 섬유아세포에 대한 저출력레이저의 세포 생존능력(cell viability)에 끼치는 효과를 관찰하고자 본 연구를 시행하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 인체 섬유아세포의 준비

(1) 1차배양

교정치료를 위하여 원광대학 부속치과병원 교정과에 내원한 10세 여아의 제일소구치를 발치하면서 발치와주위의 치은을 절제하였다. 절제한 치은은 40%, FBS(fetal bovine serum, GIBCO CO., USA)와 20% 항생제 (penicilline G, streptomycin, ampotericin B 포함, GIBCO CO., USA)가 첨가된 α-MEM (α-minimum essential medium, L-glutamine 포함, GIBCO CO., USA)에서 3회 세척하였다. 세척된 치은을 60mm 세포배양용 petri dish(Corning CO.,USA)로 옮기고 건조되지 않도록 주의하면서 No 15. scalpel 2개를 이용하여 1mm³으로 세절하였다. 세절된 치은조직은 조직의 가장자리가 잘 부착되도록 주의하면서 dish에 펴놓은 후, pipette을 이용하여 각 dish당 2ml의 배양액을 주입하여

37°C, 5% CO₂, 습도 100% 배양기(shel-lab, USA)에서 배양하였다. 배양액으로는 10% FBS와 1% 항생제를 첨가한 α-MEM을 사용하고 단일세포층이 형성될때 까지 3일간격으로 교환하였다.

(2) 2차배양

petri dish내의 배양액을 제거하고 HBSS (Hank's buffered salt solution, GIBCO CO. USA)로 2회 세척하였다. 부착된 세포를 분리하기 위해 HBSS를 제거하고 0.25% trypsin EDTA(GIBCO CO., USA)를 dish당 2ml씩 넣고 3분간 bench상에서 방치한후 pasteur pipette을 이용해서 dish에 부착된 잔여세포를 기계적으로 분리하고 원심분리용 시험관으로 옮겨서 1200rpm으로 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거하고 원심분리를 이용해서 HBSS로 2회 세척한후 배양액을 넣고 세포부유액을 만들어 60mm petri dish에 분주하였다. 분주비율은 1:3-1:4로 하였으며 같은 방법으로 5회 계대배양하여 실험에 사용하였다.

2. 세포생존능력실험

(1) 조사전 준비

계대배양한 치은의 섬유아세포를 0.25% trypsin-EDTA용액으로 처리한 후 원심분리하여 배양액으로 세포부유액을 만들었다. 표준 혈구계산방법을 이용하여 1×10⁴ cells/well과 5×10³ cells/well이 되도록 micro-test plate well (NUNC, Denmark)에 옮겨 10% 가 FBS가 포함된 200μl 배양액에서 배양한 후 다음날 배양액을 제거해서 HBSS로 세척하였다.

(2) 저출력레이저조사

각 well당 세포수 1×10⁴개인 군과 5×10³개인군으로 구분하고 다시 각각의 군을 대조군과

실험1군, 실험2군으로 구분하였다. 대조군은 레이저가 조사되지 않았고 실험1군에는 1분간, 실험2군에는 2분 30초간 레이저를 조사하였다. 이때 조사된 레이저의 주파수 형태는 제조회사에서 이미 설정한 방법에 따라 재생형(Regeneration, Rg, 주파수 47.5Hz, 190Hz, 380Hz), 이완형(Relaxation, Rx, 주파수 95Hz, 760Hz, 1520Hz), 진통형(Analgesia, An, 주파수 95Hz, 304Hz)의 3가지와 이를 모두 조사한 총합형(To)등, 모두 4가지로 실험1군과 2군에 공통으로 적용되었다.

(3) 세포생존능력 측정

대조군과 레이저를 조인 실험군을 37°C, 5% CO₂, 습도 100% 배양기(shel-lab, USA)에서 24시간 배양하였다. 배양이 끝난후 생리식염수에 용해한 MTT(3-(4, 5-dimethyl thiazol-2-YL)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma, CO, St. Louis USA, 1mg/ml) 용액 50μl를 각 well에 넣고 다시 4시간동안 배양한 후 MTT용액을 버리고 formazon 결정을 용해 시키기 위하여 DMSO(Dimethyl sulfoxide)를 50μl씩 첨가하였

다. plate를 잘 혼든 후 ELISA analyser(Model ETY-96, Tokyo instruments, Inc., Japan)로 630nm를 기준으로 하여 577nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포생존능력은 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 각 well의 측정치로 삼았다.

3) 통계분석

세포의 수와 주파수 방식에 따른 각군내 세포생존능력의 평균치와 편차를 구하고 상호간의 차이를 검정하였다. 통계처리를 위해서는 SPSS/PC+ package의 t-test와 ANOVA를 사용하였다.

III. 연구성적

1. well당 세포수 만(1×10^4)개의 경우

2분 30초 조사된 그룹에서 1분 조사된 그룹보다 대체로 세포생존능력이 높은 경향을 보였다(Table 1). 즉 세포수 만개의 경우에서는 조사량이 많을수록 생존능력이 증가하는 경향을 나타냈다.

Table 1. Mean value of cell viability by optical density(1×10^4 cells, n=8/item)

MODE	Rg1	Rg2	Rx1	Rx2	An1	An2	To1	To2
VIA-BILITY	89.6 ± 27.0	117.7 ± 18.4	90.1 ± 27.3	125.8 ± 39.7	94.1 ± 26.0	114.3 ± 20.0	81.5 ± 11.3	120.7 ± 19.8
P<0.05		P<0.05		P<0.05		P<0.05		

1분조사된 경우에서 주파수방식에 따른 차이를 비교했을 때 전반적으로 대조군에 비해 세포생존능력이 낮은 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었으며 아울러 이를 그룹간에도 아무런 차이도 관찰되지 않았다(Table 2). 2분 30

초 조사한 경우에는 각 주파수별 그룹을 대조군과 비교시 대체로 대조군보다 높은 수치를 보여, 1분 조사된 경우와는 정반대의 현상이 나타났으나 1분의 경우와 마찬가지로 유의한 차이는 없었다(Table 3).

Table 2. Comparison of cell viability between irradiation group and control group at 1 min.
(1×10^4 cells, n=8/item)

MODE	control	Rg1	Rx1	An1	To1
VIABILITY	100± 20.1	89.6± 27.0	90.1± 27.3	94.1± 26.0	81.5± 11.3
N.S					

Table 3. Comparison of cell viability between irradiation group and control group at 2 min 30sec.
(1×10^4 cells, n=8/item)

MODE	control	Rg2	Rx2	An2	To2
VIABILITY	100± 20.1	117.7± 18.4	125.8± 39.7	114.3± 20.2	120.7± 19.8
N.S					

2. well당 세포수 오천(5×10^3)개의 경우

1분 조사된 그룹이 2분 30초 조사된 그룹보다 대체로 세포생존능력이 높았다는 데 이러한

현상은 세포수 일만개의 경우와는 정반대의 것이었다. 즉 세포수 오천개의 경우에는 조사량이 많을 수록 생존능력이 감소하는 양상을 보였다(Table 4).

Table 4. Mean value of cell viability by optical density(5×10^3 cells, n=8/well)

MODE	Rg1	Rg2	Rx1	Rx2	An1	An2	To1	To2
VIABILITY	133.9 ± 13.2	90.7 ± 29.4	122.0 ± 18.4	723. ± 11.4	129.4 ± 25.9	60.1 ± 15.7	120.3 ± 21.0	70.8 ± 15.5
	P<0.01		P<0.01		P<0.01		P<0.01	

Table 5. Comparison of cell viability between irradiation group and control group at 1 min.
(5×10^3 cells, n=8/item)

MODE	control	Rg1	Rx1	An1	To1
VIABILITY	100± 19.5	133.9± 13.2	122.0± 18.4	129.4± 25.9	120.3± 21.0
N.S					

1분 조사된 경우, 주파수방식에 따른 차이를 비교시 재생군에서만 대조군보다 유의한 증가를 보였으며 그외의 모든 경우에서는 상호간의 차이가 없었다(Table 5).

2분 조사된 경우에는 이완군과 진통군에서만 대조군과 유의한 차이를 보였으며 그외의 모든 경우에서는 상호간에 차이가 없었다(Table 6).

Table 6. Comparison of cell viability between irradiation group and control group at 2 min 30sec.

(5×10^4 cells, n=8/item)

MODE	control	Rg2	Rx2	An2	To2
VIABILITY	100± 19.5	90.7± 29.4	72.3± 11.4	60.1± 15.7	70.8± 15.5
					N.S

IV. 총괄 및 고찰

저출력레이저의 사용이 과연 임상적으로 얼마만한 효과를 도출해 낼 수 있는지는 레이저의 치료효과에 관심을 가져 본 임상의라면 누구나 가질 수 있는 의문이다. 그러나 본 연구를 실시하게 된 목적에서 이미 밝혔듯이 이제까지의 많은 연구가 각기 다른 대상과 방법을 가지고 다방면에 걸쳐 중점을 두고 진행되고 있기 때문에 단순히 어느 한면만을 가지고 상호비교하거나 그에 따라 쉽사리 결론을 유도해 내는 것은 매우 어려운 설정이다. 따라서 계속적인 연구가 요구되고 있는 형편이다.

본 실험에서는 구강내 저온조직에서 유래된 섬유아세포를 배양하여 주파수 영역의 차이에 따른 Stomalaser의 배양섬유아세포의 세포생존 능력에 미치는 효과를 관찰하고자 하였다. 실험에 사용한 Stomalaser는 저출력의 적외선(infrared)레이저로 Ga-As반도체를 쓰고 있으며 47.5Hz에서부터 두배씩 증가하여 3040 Hz에 이르기까지 7개의 주파수영역을 가지고 있다. 그중 재생(regeneration)양태에서는 47.5-190

-380Hz를 번갈아 방출하며 이완(relaxation)양태에서는 95-760-150Hz를, 진통(analgesic)양태에서는 95-3040Hz를 방출한다.

저자는 이러한 주파수대의 적응이 배양된 섬유아세포의 생존능력에 어떠한 특징적 효과를 발휘하는가를 알아보고자 하였으나 결과적으로 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 이러한 현상은 Stomalaser가 위에서 말한 적외선 영역 외에도 가시광선 영역의 He-Ne레이저를 함께 방출함으로써, 또는 각각의 양태가 2-3개의 주파수를 번갈아 방출하기 때문으로, 그리고 최저 주파수와 최고 주파수간에 약 3000Hz정도의 차이가 있기는 하나 그 정도로서는 결과에 영향을 끼칠만한 차이를 보이지 않기 때문으로 등 여러가지의 가능한 원인을 생각할 수 있다. Dyson과 Yong은 700Hz에서 섬유아세포의 형성이 증가하였으나 1200Hz에서는 레이저를 조사받지 않은 그룹과 차이가 없었다고 보고하였다⁵⁾, 유는 125Hz, 100Hz, 10000Hz를 조사하여 창상치유에 미치는 효과를 비교, 관찰 연구에서 주파수에 따른 차이를 인정할 수 없다고 하였다. 본 실험에서는 세포수에 관계없이 각

조사형태간에 세포생존능력의 차이를 보이지 않았다. 따라서 레이저기기에 설정되어 있는 재생주파수영역이 특별히 세포수의 증가등에 거의 영향을 미치지 못하는 것으로 판단되었다.

레이저가 방출하는 파형에 따른 차이를 보고한 연구에 의하여 파동파(pulsed wave)는 조직에 위해작용도 있어 고에너지상태를 조직이 받게 되면 세포의 파괴가 있을 수 있으나 지속파는 조직에 대한 위해효과가 훨씬 미약한 것으로 알려져 있다^{22,23)}. 그러나 Smith⁴⁾는 가시광선 레이저와 적외선 레이저의 작용기전은 다르나 세포에 대한 임상적인 효과는 같다고 주장하였다. Stomalaser는 He-Ne가스레이저를 가시광선 영역의 레이저를 쓰고 있는데 적외선 영역의 Ga-As레이저가 대체로 파동성인 반면 He-Ne레이저는 대체로 지속파를 방출하고 있다. 따라서 지속파와 파동파를 함께 방출하며 아울러 특정주파수 보다는 여러 주파수를 번갈아 방출하는 Stomalaser는 제조자에 제시하는 주파수에 의한 개별적인 특성을 인정하기 곤란한 기기로 사료되며 결국 본 실험에서 드러난 바와 같이 섬유아세포의 생존능력에 미치는 효과도 전적으로 일관되지 않는다고 할 수는 없더라도 대체로 믿을만 한 것이 못되는 것으로 사료된다.

그러나 조사간에 따른 양상은 세포수가 다른 2개의 군 모두 일관된 양상을 보였는데, 즉 well당 만개의 경우에서는 2분 30초 조사된 그룹이 1분 그룹에 비해 세포생존능력이 증가되는 양상을 보였으나 오천개의 경우에서는 오히려 유의하게 감소한 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 전혀 뜻밖의 것으로서 이에 대한 해석은 매우 어려우며 이번의 실험만을 가지고 세포수의 차이에 따른 차이를 인정해서는 안 될 것으로 사료된다. 그러나 이유는 본 실험에서

사용된 plate 상의 well은 직경이 5mm의 것으로, 만약 보다 큰 직경의 well이 사용되었다면 이 정도의 세포수에서 과연 본실험에서와 같은 전혀 상반된 결과를 나타내었을지는 확실하지 않기 때문이다. 세포수의 차이에 대한 사항은 추후 계속적인 실험을 통해 검토되어야 할 것으로 사료된다.

이와 유사한 실험에 대해 고찰해 보면, Mester 등³⁾은 많은 조사량은 위해작용을 초래하나 적은 조사량은 촉진작용이 있다고 보고하였으며, Friedman 등¹⁰⁾은 Ca⁺⁺ pump의 작용기전을 근거로하여 많은 레이저의 조사량은 지나친 Ca⁺⁺의 세포내 유입을 초래하고 결과적으로 세포내 ATP를 고갈시켜 세포사에 이르게 한다고 하여, 같은 조건이라면 레이저의 정도를 넘는 조사가 오히려 세포에 부정적인 효과를 초래한다고 하였다. 따라서 본 연구에서 사용된 Stomalaser에 의한 효과도 조사시간의 증가에 따른 레이저에너지 증가와 그로 인한 세포변화만을 고려하는 것이 타당하다고 사료된다.

이러한 주장에 의한다면 well당 오천개의 경우처럼 2분 30초를 조사한 경우가 1분 조사한 경우보다 흡광도가 적어지는 것이 만개의 경우처럼 오히려 증가하는 현상에 비해 훨씬 타당하고 이해될만한 것으로 볼 수 있다. 그러나 상반된 결과가 나타난 것에 대해서는 이미 말했듯이 well의 크기나 주파수영역등과 같은 변화요인을 함께 조절해 가면서 계속 관찰해야 할 것이다.

세포수의 증가나 세포생존능력의 증가등에 대해서는 Kim 등¹⁹⁾이 Streptococcus mutans의 증식에 저출력의 레이저가 효과적이며 이러한 현상은 모든 세포에 적용될 수 있다고 보고한 반면 Rigau 등²⁾, Lam 등¹⁶⁾은 인체피부섬유아세포

에 대한 He-Ne레이저의 실험적 연구에서 섬유아세포의 생존능력이나 숫자등은 레이저조사군이 비조사군에 비해 증가된 양상을 나타내지 않았다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈다.

본 연구에서도 세포수의 차이에 따라 세포생존능력이 증가하거나 감소하는 경향을 보이기는 하나 통계학적으로 유의한 양상을 나타내지는 못하므로 결과적으로 레이저의 조사가 효과적이라고 말 할 수는 없을 것이다.

고찰을 통해 살폈듯이 레이저의 효과에 관한 국내외의 많은 연구가 아직 과학적으로 입증된 일치된 견해를 보이지 못하고 있으며, 이러한 현상은 본 실험 자체에서도 조사시간의 다소에 의한 효과가 세포수에 따라서는 정반대로 나타난 것으로 보아서도 쉽게 짐작할 수 있다. 따라서 저출력레이저의 임상적으로 응용 가능한 치료양태에 관해서는 폭넓고 심도있는 실험과 검토 및 확인이 반드시 필요하다고 사료된다.

V. 결 론

저출력 레이저조사가 치은섬유아세포의 세포생존능력에 미치는 영향을 조사하기 위해 본 실험을 시행하였다. 실험은 HeNe레이저와 GaAs레이저를 번갈아 방출하는 Stomalaser를 사용하여 각 well의 세포수를 오천개와 만개로 설정하고 각각에 대해 재생영역의 주파수, 이완영역의 주파수, 진통영역의 주파수, 이를 모두를 방출하는 전영역의 주파수 그룹으로 구분하였다. 또 각 주파수 그룹에 대해 1분조사시간과 2분 30초 조사시간의 그룹으로 분류하여 주파수와 조사시간에 따른 세포생존능력의 차

이를 흡광도를 이용하여 대조군과 비교하거나 상호간의 비교를 통해 관찰하였으며 아래의 결과를 얻었다.

1. 각 well당 세포수가 만개인 경우 조사시간의 증가로 세포생존능력이 증가하는 경향을 보였으나 오천개의 경우에는 조사시간의 증가로 오히려 세포생존능력이 감소한 양상을 나타냈다.
2. 주파수방식에 따른 그룹간 생존능력의 차이는 세포수 오천개의 경우에는 몇개의 그룹이 대조군과 유의한 차이를 보이기는 했으나, 세포수 일만개의 경우에는 전혀 관찰되지 않아 대체로 주파수에 따른 차이를 인정할 수 없었다.
3. 배양된 치은섬유아세포의 생존능력에 비해 본 연구에서 사용한 저출력레이저의 효과는 일괄된 양상을 보이지 않았다.

참 고 문 헌

1. Maiman, T.H. : Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*, 187 : 493-494, 1960.
2. Rigau,J.,Trelles,M.A.,Calderhead,R.G.,Mayayo, E. : Changes in fibroblast proliferation and metabolism following in vitro helium-neon laser irradiation. *Laser Therapy*, 3 : 25-33, 1991.
3. Mester,E.,Messter,E.D.,Mester,A. : The biomedical effect of laser application. *Laser in surgery and medicine*, 5 : 31-39, 1985.
4. Smith,K.C. : The photobiological basis of low level laser radiation therapy. *Laser Therapy*, 3 : 19-24, 1991.

5. Hansson, T.L : Infrared laser in the treatment of craniomandibular disorders, arthrogenous pain. *J Prosthet Dent.* 61 : 614-616, 1989.
6. Walker, J. : Relief from chronic pain by low power laser irradiation. *Neuroscience letters,* 43 : 339-344, 1983.
7. Brockhouse,A.,Elger,C.E : Hypalgesic efficacy of acupuncture on experimental pain in man. Comparison of laser acupuncture and needle acupuncture. *Pain,* 43 : 181-185, 1990.
8. Haker, E.,Lundeberg,T. : Laser treatment applied to acupuncture points in lateral humeral epicondylagia. A double-blind study. *Pain,* 43 : 243-247, 1990.
9. Hansen,H.J.,Thore, U. : Low power laser bio-stimulation of chronic oro-facial pain. A double-blind placebo controlled cross-over study 40 patients. *pain,* 43 : 169-197, 1990.
10. Friedmann, H.,Lubart,R. : Towards an explanation of visible and infrared laser induced stimulation and damage of cell cultures. *Laser Therapy,* 4 : 39-42, 1991.
11. Nagasawa, A.,Kato, K.,Negishi,A. : Bone regeneration effect of low level lasers including argon laser. *Laser Therapy,* 3 : 59-62, 1991.
12. Sasaki, K., Calderhead, R.G.,Chin,I.,Inomata,K. : To examine the adverse photothermal effects of extended dosage laser therapy in vivo on the skin and subcutaneous tissue in the rat model. *Laser Therapy,* 4 : 69-73, 1992.
13. Balboni, G.C.,Brandi,M.L.,Zonefrati,R.,Repice, F. : Effect of laser irradiation on two lines of normal human fibroblast in vitro. *International congress on laser in medicine and surgery,* 101-103, 1985.
14. Tocco, G.,Le Borgne de kaouel, C.,Aubert,C. : Helium-neon and infrared-laser influence on skin cells in vitro : preliminary results. *International congress on laser in medicine and surgery.,* 175-182, 1985.
15. Hong Zheng, Jian-Zhong Qin, Hong Xin, Shi-Yi Xin. : The activating action of level helium neon laser radiation on macrophage in the mouse model. *Laser Therapy,* 4 : 55-58. 1992.
16. Lan, T.S.,Abergel, R.P.,Castel,J.C. : Effect of lasers on the biology of human skin fibroblast. *Min. Riflessoter,* 2 : 89-98, 1985.
17. 김기석, 김영구 : 저출력레이저 광선이 백서연조직 칭상치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. *대한구강내과학회지,* 10 : 91-104, 1985.
18. 김기석, 김생곤 : 치은 섬유아세포(gingival fibroblast)에 대한 저출력 레이저광의 효과에 관한 실험적 연구. *대한구강내과학회지,* 12 : 17-25, 1987.
19. Kisuk,K.,Dong-Hun,L.,Sam-Kun,K. : Effects of low incident energy levels of infrared laser irradiation on the proliferation of streptococcus mutans. *Laser Therapy,* 4 : 81-85, 1992.
20. 권순오, 한경수 : 저출력레이저 조사가 백서의 콕골신경 재생에 미치는 연구. *대한구강내과학회지,* 16 : 17-31, 1991.
21. 유근주 : 칭상 치유에 대한 Laser 조사효과의 실험적 연구. *충남대학교 대학원 석사학위논문,* 1988.

22. Marshall, J.Mellerio,J. : Laser irradiation of retinal tissue. Br. Med.Bull., 26 : 157—160, 1970.
23. Yew, D, T., Ling Wong, S.L,Chan,Y.W. : Stimulating effect of the low dose laser. — A new hypothesis. Acta anat. 112 : 131—136, 1982.

AN EXPERIMENTAL STUDY ON THE EFFECTS OF LOW LEVEL LASER IRRADIATION ON THE CELL VIABILITY OF CULTURED FIBROBLAST

Yang Keun-Young, D.D.S., Han Kyung-Soo, D.D.S., Kang Sae-Sook

Dept. of Oral Diagnosis and Oral Medicine, School of Dentistry,

Wonkwang University.

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effects of infrared and visible light laser irradiation on cell viability of human gingival fibroblast. For the present study, the author used cultured fibroblast originated from sound gingiva which were fifth or sixth passage. Laser machine utilized here were stomalaser which irradiate infrared(GaAs diode) and red(HeNe) laser in turn with pulse wave pattern or continuous wave pattern, and the machine had several frequency mode presented by regeneration, relaxation and analgesic modalities.

Cultured fibroblast samples were divided by this modalities or cell counts and laser exposure time which were 60 seconds or 150 seconds, respectively.

1 day after laser irradiation, each cell-well was treated with MTT and measured optical density with ELISA.

The obtained results were as follows :

1. There was a tendency of increasing optical density in proportion to irradiation time in groups of 1×10^4 cell per well but in groups of 5×10^3 cell per well, reverse phenomena were observed.
2. The difference of optical density according to frequency modalities were not showed significantly except several cases in groups of 5×10^3 cell per well.
3. In general, cell viability of cultured human gingival fibroblast were not showed consistent feature by low level laser irradiation.