

저출력 레이저가 창상치유과정에서 Tenascin 발현에 미치는 영향

연세대학교 치과대학 구강진단·구강내과학교실

김상배·김종열

목 차

- I. 서 론
 - II. 실험재료 및 방법
 - III. 연구성적
 - IV. 총괄 및 고찰
 - V. 결론
- 참고문헌
사진부도
영문초록

I. 서 론

창상치유 과정은 생활반응으로서 이에 대한 많은 연구가 선학등에 의하여 이루어져 왔다(Harvey²⁵, Shilling⁴⁵). 창상치유 과정은 창상이 언제, 어느곳에 형성되든 간에 근본적으로 동일한 과정을 밟게 되며 그 정도에 따라 염증반응과 육아조직의 증식, 섬유화, 반흔의 형성등을 볼 수 있다(Bernier, Kaplan⁵).

창상의 치유를 촉진시키기 위한 연구를 보면 과거에는 주로 외과적 방법이나 화학적인 약제에 의존하였으나 최근에는 저출력레이저에 의한 창상치유 효과에 대한 관심이 집중되어 왔다(Arndt와 Noe³, Abergel등¹¹).

레이저는 1960년에 Maiman³⁷이 합성 루비 결정으로부터 최초의 레이저를 발견한 이래로 레이저의 의학적, 광생물학적 응용이 연구되어 왔다. Mester³⁹등은 창상치유 과정에 미치는 저출력 레이저에 대한 연구를 시도하여 기계적 손상과 화상에 있어서 상피의 증식을 촉진한다고 보고하였다. 그 이후의 연구에서 소염작용(Moore⁴⁰), 진통작용(Jakush⁴⁰), 조직혈관의 변화(Henschel²⁶), 세포에 대한 자극효과(Ohta⁴¹

등이 보고되었다.

저출력 레이저의 치료효과에 대해 초기에는 조직내 온도 상승에 의한 열효과로 믿어왔으나 현재까지 그 기전이 분명히 밝혀지지 않고 있다(Pilikin⁴⁴).

그러나, 대체로 저출력 레이저가 열효과 보다는 여러 생물학적 분자를 활성화 시키는 광화학적 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Hansen²⁴, Hillenkamp²⁷).

창상의 치유과정에서 나타나는 다양한 현상중에 세포의 기질에 대한 연구가 활발히 진행되어 hydroxyproline, 교원섬유, laminin, fibronectin, tenascin 등에 대한 연구가 시도되었다(Adzick², Merkel³⁸, Whitby⁵⁵). Adzick 등²은 창상의 치유과정에서 교원섬유의 합성이 가장 중요한 요소라고 보고하였다.

세포의 기질의 단백질인 tenascin은 발생과정에 나타나서 상피-간엽조직의 상호작용에 중요한 역할을 하는것으로 알려져 있다(Chiquet-Ehrismann등⁴⁴).

Fibronectin은 이량체(dimer)의 구조를 가지며 tenascin은 육량체(hexamer)의 구조를 가진다고 하였으며(Chiquet-Ehrismann¹⁵)은 정상적인 구강점막에서 tenascin은 상피의 기저막과 저작상피 부위의 유두진피에 선택적으로 존재하여 기능적인 면과 관련이 있다고 보고되어 있다(Sloan⁴⁷).

정상 상피조직의 기저막에서도 투명대(lamina lucida) 하방과 혈관 주변에 tenascin이 존재하며(Lightner³³), 연골과 골형성에 중요한 역할을 한다고 보고되어 있고(Mackie³⁵), Ter-vo 등⁴⁹은 토끼의 각막에서 수술후 fibronectin과 tenascin의 분포와 발현시기에 대해 보고하

였다.

Loumanen³⁴⁾은 백서의 구강점막의 창상에서 tenascin의 발현이 증가된다고 보고하여 창상 치유와 관련된 당단백의 세포외 기질에 대한 관심이 있어왔다.

이에 본 연구는 토끼의 구강점막과 피부에서 저출력 레이저가 창상의 치유과정에 따른 세포외 기질인 tenascin의 발현에 미치는 영향과 함께 창상치유 시기에 따른 tenascin의 발현, 조직학적 치유과정과 연관된 tenascin의 역할에 대한 연구를 시행하고자 한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

생후 6개월된 체중 2.5~3.0kg의 가토 35두 중에서 암, 수 구분없이 레이저를 조사할 실험군으로 20두를 4두씩, 대조군은 나머지 15두를 3두씩 분류하여 창상 형성후 2, 4, 7, 10, 14일째 각각 희생시키었다.

2. 창상 유도

가토 35두를 실험군 20두와 대조군 15두를 각각 4, 3두씩 5군으로 형성한후 Ketalar (Ketamine HCL, 유한양행, 50mg/ml)를 체중 Kg당 5~10mg을 대퇴부 근육에 주사하여 실험군과 대조군을 마취한 후 가토의 구강 협점막에는 11번 외과용 칼로 깊이 2mm, 길이 3mm의 창상을 형성하였으며 피부에는 흉배부에 털을 깎은후 같은 방법으로 창상을 형성시켰다.

3. 레이저 조사

실험군과 대조군중에서 실험군에만 레이저 조사를 창상형성 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13일후 즉격일에 1회 창상부위에 조사하였다(Table 2). 대조군의 경우는 레이저를 조사한 실험군과 창상치유효과를 비교하기 위해 레이저를 조사하지 않았다.

저출력레이저(Gallium-Arsenide LASER)의 조사는 구내염에 유효하다고 인정되는 Pulse 8 (1000Hz)을 사용하여 실험군에 형성된 손상부위에 각각 5분씩 조사하였다. 이때 레이저

head는 가능한 한 손상부위에 밀접시켜 수직으로 조사하였다. 사용한 레이저의 사양은 Table 1과 같다.

Table 1. Characteristics of Ga-As LASER used in this experiment

Laser DENS-BIOLASER(Dong-Yang Medical Co., Korea)
Type Infrared pulsed or/and Continuous Gallium-Arsenide(Ga-As) laser
Wave length : 904nm
Peak power output : 27W
Energy power : 1~20mW
Frequency Pulse : 8(1000Hz)

손상조직 표본제작을 위한 가토의 희생은 손상형성 2일째에 실험군 4두, 대조군 3두를 희생시켜 각 손상부위를 절제생검하여 각각 10% 포르말린 용액에 고정시키었다. 같은 방법으로 창상형성 4일, 7일, 10일, 14일째 실험군 4두, 대조군 3두씩 희생시켜 창상조직 생검을 시행하였다.

Table 2. The number of irradiations and the total irradiation time of laser on experimental groups

Sacrificed day	2	4	7	10	14
The number of irradiations	1	2	3	5	7
Total irradiation time(min)	5	10	15	25	35

4. 조직 절편 제작

실험동물을 창상유도후 실험군, 대조군 각군을 모두 창상 형성 2일, 4일, 7일, 10일, 14일째에 희생시켜 실험부위를 절제한 후 10% 중성 포르말린에 6시간 이상 고정하였다. 고정된 조직은 일련의 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 절삭기로 4um 두께로 절단하여 통상의 방법에 따라 Hematoxylin-Eosin 염색후 광학현미경(Olympus)으로 각 시기별 조직학적 소견을 검색하였다.

5. 면역 조직 화학 염색

파라핀에 포매된 조직에서 4um의 연속절편을 제작하여 Xylene에서 10분간 3회에 걸쳐 파라핀을 제거한후 알콜에서 단계적으로 흡수한 다음 일차항체로는 생쥐에서 추출한 tenascin에 대한 단일클론 항체(MAB 1927, Chemicon, USA)를 사용하였으며 Hsu등²⁸⁾(1981)의 방법에 따라 면역조직 화학 염색을 시행하였고 그 과정은 아래와 같다.

- 1) Deparaffinization in xylene
- 2) Rehydration in graded alcohol (95%, 90%, 75%)
- 3) Blocking of endogenous peroxidase in 3% H₂O₂(20min)
- 4) Washing in tris-buffer saline (TBS)
- 5) Blocking serum with normal rabbit serum (30min)
- 6) Primary antibody (1 : 100, 1hr)
- 7) Washing in TBS
- 8) Biotinylated secondary anti-mouse IgG rabbit antibody (30min)
- 9) Washing in TBS
- 10) Chromogen conjugated Strepto-avidin (30min)
- 11) Washing in TBS
- 12) Diaminobenzidine in 0.5% H₂O₂
- 13) Washing in distilled water
- 14) Counter staining in Meyer's Hematoxyline
- 15) Dehydration in graded alcohol (70%, 95%, 100%)
- 16) Mounting in balsam

6. 조직학적 관찰

면역조직화학 염색된 절편을 Hematoxyline-Eosin 염색된 절편과 비교하여 광학현미경으로 관찰하였다. Tenascin의 표현 정도는 반 정량적 방법을 이용하였으며 각각 약한 양성반응(+), 중증도의 반응(++), 강한반응(+++)으로 구분하여 창상의 상피조직과 진피의 경계부, 육아조직 형성부를 중점적으로 관찰하였다.

Ⅲ. 연구성적

1. 구강 점막

가. 대조군

괴사와 급만중 염증의 소견이 보이는 2일째에는 tenascin이 표현되지 않았다. 4일째에는 상피와 진피의 경계부, 상피하층의 결체조직, 육아조직의 형성부위에 중증도 이상의 표현을 보이고 있었다(Figure 1). 7일째에는 상피와 진피의 경계부에서는 관찰할 수 없었고 상피하층의 결체조직에는 다소 남아 있는 양상이었다. 10일경에는 결체조직층에서만 발견되었다(Table 3).

나. 실험군

2일째에는 대조군과 비슷하였으나 4일째에는 대조군에 비해 상피하층과 육아조직 형성부위에 tenascin이 강하게 표현되고 있었다(Figure 2). 7일 이후에는 대조군과 유사하게 상피 직하방에서는 발견할 수 없었고 육아조직이 다소 남아 있는 결체조직에서만 표현되고 있었다(Table 3).

Table 3. Tenascin expression in oral mucosa

Days	Tenascin expression			
	Epidermal-dermal junction		Connetive tissue area	
	control	Exp.	Control	Exp.
2	-	-	-	-
4	+ / +++	++ / +++	+ / +++	++ / +++
7	-	-	+ / +++	+ / +++
10	-	-	++	+
14	-	-	-	-

Exp. : experimental group

- : negative staining

+ : weakly positive

++ : moderate staining

+++ : strongly positive

2. 피부

가. 대조군

피사 소견과 함께 치유가 시작 되지 않은 2 일째에는 tenascin의 표현을 보이지 않았으며 4일째에는 상피와 진피 경계부에 약하게 표현되고 있었다. 7일과 10일째에는 상피하층과 하방 육아조직 형성 부위에 중증도의 표현을 관찰할 수 있었고 이러한 표현은 육아조직의 형성부위와 일치하였다(Figure 3). 14일째에도 구강점막과는 달리 중증도의 표현이 남아 있는 소견이었다(Table 4).

나. 실험군

2일째에는 tenascin의 표현을 찾을 수 없었고 4일째에는 상피와 진피의 경계부에 중증도의 표현을 관찰할 수 있었다. 7일째에는 상피하방 육아조직 형성부위에서도 강하게 표현되고 있었고(Figure 4), 그 정도는 대조군에 비해서 강하게 표현되는 양상이었다. 10일째에는 상피하방과 육아조직 형성부위에 모두 중증도의 표현을 보이고 있으며 대조군과 유사한 정도였다. 14일째에는 상피하방에서는 관찰되지 않았고 결체조직에서만 관찰할 수 있었다(Table 4).

Table 4. Tenascin expression in skin

Days	Tenascin expression			
	Epidermal-dermal junction		Connetive tissue area	
	control	Exp.	Control	Exp.
2	-	-	-	-
4	+/+	+/+++	-	-
7	+/+++	+/++++	+/+++	+/++++
10	+/+++	+/+++	+/++++	+/+++
14	+/+++	-	+/+++	-/+

IV. 총괄 및 고찰

1967년 Carney등⁹⁾은 루비레이저가 상피세포 배양에 미치는 영향을 연구하여 상피세포에서 레이저의 흡수와 세포내 물질의 생합성이 증가한다고 보고한 이래 이에 대한 지속적인 연구가 진행되어 왔다.

Mester등³⁹⁾은 레이저가 외과적 창상뿐만 아니라 화상에 있어서도 치유를 촉진시키며 그 원인은 상피의 치유를 촉진시키기 때문이라고 보고한 바 있다. 또한 Kana등³¹⁾은 Helium-Neon 저출력 레이저가 창상치유과정중의 collagen hydroxyprolin을 증가시키고 argon 레이저도 창상의 교원섬유를 증가시켜 치유를 촉진시키고 창상수축을 감소시킨다고 보고한 바 있다. Abergel등¹⁾은 Gallium-arsenide(Ga-As) 레이저가 섬유세포 배양시 교원섬유의 합성을 2~3배 증가시킨다고 하였고 이 효과는 저출력 레이저가 유전자 수준에서 전-교원섬유의

생성을 증가시킨다고 보고한 바 있다. 또한 저출력 레이저가 교원섬유의 합성과 관계된 결합조직의 세포의 물질들에 미치는 영향에 대한 연구가 있었다(Loumanen과 Virtanen³⁴⁾).

한편, 창상치유과정에 관여하는 세포의 기질에 대한 연구가 활발히 이루어져 왔는데 최근에 특정 단백질에 대한 면역화학염색을 시행하여 창상치유와 관련된 세포의 기질의 발현시기와 양상을 알아보고 이들의 역할을 추측할 수 있는 연구가 활발히 진행되고 있다. 이에 따른 연구로서 Grinnell등²²⁾은 창상치유과정중에 나타나는 fibronectin에 대한 연구에서 이는 정상피부의 기저막과 창상치유과정중의 육아조직 부위에 존재한다고 보고하여 fibronectin이 창상치유에 중요한 역할을 한다고 보고한 바 있다. 또한 1988년 Clark등¹⁵⁾은 fibronectin이 단핵구, 섬유세포의 화학주성요소 역할과 세균, 조직잔사를 제거하는데 있어서 옵소닌(Opsonin)으로 작용한다고 하였다. 또한 fibronectin

이외에 fibrin, 제4형 교원섬유가 상피의 재생과 밀접한 관련이 있다고 하여(Clark¹⁵⁾, 1982) 세포외 기질에 대한 관심을 증가시켰다. 최근에는 Mackie등³⁶⁾이 창상치유에 tenascin이 관련이 있다고 보고하였다.

Tenascin은 세포외 기질에 존재하는 당단백으로 여러가지 명칭으로 불리워져 왔는데 hexabrachion(Erickson과 Iglesias), myotendinous antigen(Chiquet와 Fambrough), GP 250 protein(Bourdon), Cytotactin(Grumet), J1 protein(Kruse등), brachionectin(Vaughan)등으로 불리워져 왔다³³⁾. 이는 지금까지 알려진 여러 유형의 교원섬유나 fibrin, laminin, fibronectin, chondronectin등과는 다른 당단백(Chiquet-Ehrismann, Lightner^{13, 15, 33)} 결합조직이나 상피-간엽 경계부, 종양간질등에 존재하여 세포와 세포, 세포와 간질의 결합과 이동, 세포분화등에 관여한다고 보고되어 있다(Chiquet-Ehrismann등^{13, 14)}).

Chiquet과 Fambrough¹²⁾는 tenascin이 연골막, 골막, 인대와 발생중인 근육에 존재한다고 보고한 바 있으며 Mackie등³⁵⁾은 연골등에 tenascin이 존재하여 이것이 fibronectin과 세포간의 상호작용과 세포분화에 관여함으로써 연결의 형성에 중요한 역할을 할 것이라고 보고한 바 있다.

Lightner등³³⁾은 면역조직화학염색과 전자현미경적 연구를 통해 tenascin이 피부의 기저막의 투명대(lamina lucida) 하방과 땀샘관의 기저막에 존재한다고 보고한 바 있다. 본 실험에서는 손상을 받지않는 점막이나 피부에서는 tenascin이 기저막 하부에서만 존재하는 것을 확인할 수 있었다.

한편, Mackie등은 tenascin이 정상일 때 기저막 부위에만 간헐적으로 존재하지만 창상을 받은 경우에는 손상을 받은 인접 상피에서 급격히 그 표현이 증가한다고 보고한 바 있다(Figure 3, 4). 또한 이들에 따르면 tenascin은 육아조직의 기질에 따라 분포하고 창상이 완전히 치유된후에도 사라진다고 하였다. 이러한 분포 양상은 fibronectin과 분명히 다르고 창상부위로 이동하는 인접상피의 laminin의 발현전이나타난다고 하였고, 근 섬유세포의 분포와 일치하지는 않았다고 보고하였다. 이들은 또한

전자현미경적 연구를 통해서 tenascin은 상피-진피 경계부의 기저막과 창상에 인접한 진피간질의 세포외 기질에 균일하게 분포하거나 교원섬유 표면에 부착하여 존재한다고 하였다. Laumanen등³⁴⁾도 백서의 구강점막의 창상치유과정에서 tenascin은 분포가 이들과 일치한다고 하였고 창상이 치유된 이후에는 사라진다고 하였다.

본 연구에서도 tenascin은 상피기저막 하방과 육아조직 부위의 세포간질에 존재한다는 것을 확인할 수 있었고 tenascin이 상피의 재생뿐만 아니라 육아조직의 형성에도 중요한 역할을 한다고 생각된다.

발현시기에 있어서 Tervo등은 토끼의 각막 절제술후 tenascin은 12시간후에 나타나기 시작하였으나 fibronectin은 24시간후에 나타난다고 하였다. 구강점막에 있어서는 Loumanen등에 따르면 tenascin이 창상후에 2일후에 나타나기 시작하여 4일째 가장 높은 증가를 보이는 것으로 보고하였고, Whitby⁵⁵⁾에 따르면 백서에 있어서 태아의 경우 1시간후, 신생아의 경우에는 12시간후, 성장이 완료된 경우에는 24시간후에 나타난다고 하였다. 본 실험을 통해서도 이들과 유사한 결과를 얻을 수 있었고 발현 시작시기의 차이는 각 실험동물과 연령에 따른 차이라고 생각된다.

레이저가 창상의 치유과정에 미치는 여러방면에 대한 연구가 있어왔다. 1967년 Carney등은 섬유세포의 배양중에 레이저를 조사하면 세포내 기질의 합성이 증가하며 이러한 세포합성의 증가가 레이저의 임상효과와 관련이 있으리라고 보고하였다. 또한 Mester³⁹⁾등은 화상을 입힌 조직과 외과적인 창상에서 모두 루비레이저가 창상의 치유를 촉진한다고 보고하였고 이러한 결과는 상피의 재생을 촉진하기 때문이라 하였다. 또한 Kana등³¹⁾은 Helium-Neon 레이저가 4 joules/cm²의 출력에서 창상의 치유시 교원섬유의 합성을 촉진시켜 창상의 수축을 감소시킨다고 보고한 바 있다. Abergel등³⁰⁾은 여러종류의 레이저에서 모두 피부의 섬유세포에서 대사를 촉진시킨다고 보고하였다. 특히 Helium-Neon(He-Ne) 레이저와 Gallium-Arsenide(Ga-As) 레이저는 교원섬유의 합성을 촉진하고 이로서 창상의 치유가 촉진된다고

한바 있다. 한편 Clover등¹⁸⁾은 Helium-Neon 레이저가 피부의 섬유세포, 상피세포, 혈관세포, glycosaminoglycan의 분비, 교원섬유의 합성 모두에 영향을 미치지 않는다고 보고하여 창상 치유에 미치는 레이저의 효과에 대해서는 이견이 있어왔다. 그러나 저출력 레이저가 창상의 치유시 세포와 기질의 형성과 분포에 미치는 영향에 대한 연구는 현재까지 거의 없었다.

본 연구를 통하여 저자는 저출력 레이저가 실험군의 구강점막에서 창상유도후 4일후에 대조군에 비해 실험군에서 tenascin이 다소 증가되고(Table 3, Figure 1, 2) 피부에서는 7일후에 증가되어 있음을 확인할 수 있었다(Table 4, Figure 3, 4). 점막과 피부의 창상치유과정중 tenascin발현시기가 다른 이유는 손상시 구강점막의 치유속도가 피부보다 더 빠르기 때문으로 사료된다.

한편, 선행들^{13, 15, 33, 34, 35, 36)}의 tenascin에 대한 연구보고에 의하면 tenascin이 배엽조직과 종양의 간엽조직에서 많이 관찰되며, 성인에 있어서는 기저막과 접한 결체조직 유두부의 끝부분에 드물게 존재하다가 창상치유과정에서 재생된 상피하 기저막부위, 손상된 결체조직부위, 창상부위에 대치되는 육아조직에 집중되어 나타난다고 하여 tenascin이 세포의 이동을 위한 이상적 조건을 제공하여 창상부에서 다른 세포의 기질인 glycoprotein의 침착과 조직화에 중요한 역할을 할 것이라 주장하였다.

이러한 주장과 본인의 실험결과를 종합해 볼 때 tenascin의 발현이 창상치유과정중에 상피의 재생과 육아조직의 형성에 밀접한 연관이 있으며, 저출력 레이저가 tenascin발현을 촉진시킴으로써 창상치유에 도움이 된다고 추측되며 이런 현상의 기전을 밝히기 위한 세부적 연구 및, 저출력레이저의 주파수변조에 따른 조직반응, tenascin발현의 차이, 레이저의 부작용 등에 대한 세부적인 연구가 계속되어야 할 것이라고 사료된다.

V. 결 론

1. Tenascin의 발현은 대조군과 실험군 모두에서 주로 상피세포와 진피의 경계부, 결체조직사이 간질에 존재하였다.

2. 구강점막에서 실험군은 창상유도후 4일째의 상피와 결체조직에서 대조군에 비해 tenascin의 발현증가를 보이고 있었으며 7일째의 결체조직에서는 감소하기 시작하여 10일째에는 대조군에 비하여 적게 발현되었다.

3. 피부에서는 tenascin의 발현 양상은 같았으나 그 최고 발현시기에는 차이가 있었다. 실험군은 창상유도 7일째에 tenascin이 상피와 결체조직에서 가장 많이 발현되었고 대조군은 10일째에 결체조직에서 가장 많이 발현되었다.

4. Tenascin의 발현양상은 대조군과 실험군에서 치유 초기 단계에서는 창상인접부위의 상피와 점막하 부위에서부터 발현되기 시작하여 점차 그 하방 결체조직으로 퍼져나가는 양상이었다.

이상의 실험결과를 볼 때 tenascin의 발현이 창상치유과정중에 상피의 재생과 육아조직의 형성에 연관성이 추정되며, 저출력 레이저가 tenascin의 발현을 촉진시킴으로써 구강 연조직의 창상치유의 촉진에 도움이 될 것이라고 사료된다.

참고문헌

1. Abergel, R. P., Meeker, C. A., Lam, T. S., Dwyer, R. M., Lesavoy, M. A., Uitto, J. : Control of connective tissue metabolism by laser : recent developments and future prospects. *J. Am. Acad. Dermatol.* 11 : 1142-1150, 1984.
2. Adzic, N. S., Harrison, M. R., Glick, P. L., Beckstead, J. H., Villa, R. L. Scheuenstuhl, H. S., Goodson, W. H. : Comparison of fetal, new born, and adult wound healing by histologic, enzyme-histochemical, and hydroxyproline determinations. *J. Pediat. Surg.* 20 : 315-319, 1985.
3. Arndt, K. A., Noe, J. M. : Laser in dermatology. *Arch Dermatol.* 118 : 293-295, 1982.
4. Aufderheid, E., Ekblom, P. : Tenascin during gut development : appearance in the mesenchyme, shift in molecular forms and dependence on epithelial-mesenchymal interactions. *J. Cell Biol.* 107 : 2341-2349, 1988.

5. Bernier, J., Kaplan, H. : The repair of gingival tissue after surgical intervention. *J. Am. Dent. Assoc.* 35 : 697-705, 1947.
6. Bhaskar, S. N., Frish, J. : Use of cyanocrylate adhesive in dentistry. *J. Am. Dent. Assoc.* 77 : 831-834, 1968.
7. Bonchehk, L. I., Braunwald, N. S. : Experimental evaluation of a across-linked gelatin adhesive in gastrointestinal surgery. *Ann. Surg.* 165 : 420-424, 1967.
8. Bourdon, M. A., Mathews, T. J., Pizzo, S. V., Bigner, D. D. : Immunochemical and biochemical characterization of a glioma-associated extracellular matrix glycoprotein. *J. Cell Biochem.* 28 : 183-195, 1985.
9. Carney, S. A., Lawrence, J. C., Ricketts, C. R. : The effect of light from a ruby laser on metabolism of skin in tissue culture. *Biochem. Acta.* 148 : 525-530, 1967.
10. Carter, W. G. : Tranceformation-dependent alteration in glycoproteins of the extracellular matrix of human fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 257 : 13805-13815, 1982.
11. Chase, W. H. : Extracellular distribution of ferrocyanide in muscle. *Arch. Pathol.* 67 : 525-532, 1959.
12. Chiquet, M., Fambrough, D. M. : Chick myotendinous antigen. I. Amonoclonal antibody as a marker for tendon and muscle morphogenesis, *J. Cell Biol.* 98 : 1926-1936, 1984.
13. Chiquet-Ehrismann R., Mackie, E. J., Pearson, C. A., Sakakura, T. : Tenascin : an extracellular matrix protein involved in tissue interactions during fetal development and oncogenesis. *Cell*, 47 : 131-139, 1986.
14. Chiquet-Ehrismann R., Kalla, P., Pearson, C. A., Beck, K., Chiquet, M. : Tenascin interferes with fibronectin action. *Cell*, 53 : 383-390, 1988.
15. Chiquet-Ehrismann R. : What distinguishes tenascin from fibronectin?, *FASEB J.* 4 : 2598-2604, 1990.
16. Clark, R. F., Lanigan, J. L., Dellapelle, P., Manseau, E., Dvorak, H. F., Colvin, R. B. : Fibronectin and fibrin provide a provisional matrix for epidermal cell migration during wound reepithelialization., *J. Invest Dermatol.* 79 : 264-269, 1982.
17. Clark, R. F. : Potential roles of fibronectin in cutaneous wound repair., *Arch. Dermatol.* 124 : 201-206, 1988.
18. Clover, G. B., Priestley, G. C. : Failure of a helium-neon laser to affect components of wound healing in vitro., *Br. J. Dermatol.* 121 : 179-186, 1989.
19. Crossin, K. L., Hoffman, S., Grumet, M., Thiery, J. P., Edelman, G. M. : Site-restricted expression of cytotactin during development of the chicken embryo, *J. Cell Biol.* 102 : 1917-1930, 1986.
20. Dunphy, J. E. : On the nature and care of wounds., *Ann. Roy. Coll. Surg. Engl.* 26 : 69-87, 1960.
21. Erickson, H. P., Iglesias, J. L. : A six-armed oligomer isolated from cell surface fibronectin preparation., *Nature(Lound.)* 311 : 267-269, 1984.
22. Grinnel, F., Billingham, RE., Burgess, L. : Distribution of fibronectin during wound healing in vivo., *J. Invest. Dermatol.* 76 : 181-189, 1981.
23. Grument, M., Hoffman, S., Grossin, K. L., Edelman, G. M. : Cytotactin, an extracellular matrix protein of neural and non-neural tissue that mediates alia-neuron interaction., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 : 8075-8079, 1985.
24. Hansen, H. J., Thoteoe, U. : Low power laser biostimulation of chronic orofacial pain. A double-blind study., *Pain.* 43 : 169-179, 1990.
25. Harvey, S. C. : The healing of the wound as a biologic phenomenon., *Surg.* 25 : 655-659, 1949.
26. Henschel, R. A. : Dentistry and upper body strength. Letters to editor, *J.A.D.A.*, 104 : 12, 1982.
27. Hillenkamp, F. : Interaction between laser

- radiation and biological system. In F. Hillenkamp, R. Pratesi and C. A. Sacci (Eds.) lasers in biology and medicine. Plenum Press, New York, 1-32, 1980.
28. Hsu, S. M., Raine, L., Fanger, H. : Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immuno-peroxidase technique : A comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures., *J. Histochem. Cytochem.* 29 : 577-580, 1981.
 29. Ihara, S., Motobayashi, Y., Nagao, E., Kistler, A. : Ontogenetic transition of wound healing pattern in rat skin occurring at the fetal stages., *Develop.* 110 : 671-680, 1990.
 30. Jakush, J. : Can dental therapy enhance athletic performance?, *J.A.D.A.*, 104 : 292, 1982.
 31. Kana, J. S., Hutschenreiter, G., Haina, D., Waidelich, W. : Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats., *Arch. Surg.* 116 : 293-296, 1981.
 32. Kruse, J. G., Keihauer, G., Faissner, A., Timpl, R., Schacher, M. : The J 1 glycoprotein : a novel nervous system cell adhesion molecule of the L2.HNK-1 family., *Nature (Lund.)* 316 : 416-418, 1985.
 33. Lightner, V. A. : Tenascin/Hexabrachion in human skin : Biochemical identification and localization by light and electron microscop., *J. Cell Biol.* 108 : 2483-2493, 1989.
 34. Loumanen, M., Virtanen, I. : Distribution of tenascin in healing incision, excision and laser wounds., *J. Oral Pathol. Med.* 22 : 41-45, 1993.
 35. Mackie, E. J., Thesleff, I., Chiquet-Ehrismann R. : Tenascin is associated with chondrogenic and osteogenic differentiation in vivo and promotes chondrogenesis in vitro., *J. Cell Biol.* 105 : 2569-2579, 1987.
 36. Mackie, E. J., Halfter, W. H., Liverani, D. : Induction of tenascin in healing wound., *J. Cell Biol.* 107 : 2757-2767, 1988.
 37. Maiman, T. H. : Stimulated optical radiation in Ryby. *Nature*, 187 : 493, 1960.
 38. Merkel, J. R., Dipalol, B. R., Hallock, G. G., Rice, D. C. : Type I and type III collagen content of healing wounds in fetal and adult rats., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 187 : 493-497, 1988.
 39. Mester, E., Spiry, T., Szende, B., Tota JG : Effect of laser rays on wound healing. *Am. J. Surg.* 122 : 532-535, 1971.
 40. Moore, M. : Corrective mouth guards : Performance aids or expensive placebos? *Physician Sports Med.* 9 : 127, 1981.
 41. Ohta, A., Abergel, R. P., Uitti, J. : Laser modulation of human immune system : Inhibition of lymphocytic proliferation by a Ga-As laser at low energy. *Lasers in surgery and medicine.* 7 : 199-201, 1987.
 42. Orban, B., Archer, E. A. : Dynamics of wound healing following elimination of gingival pockets. *Am. Orthodon. Oral Surg.* 31 : 40-54, 1945.
 43. Ordman, L. J., Gillman, T. : Studies in the healing of cutaneous wounds. III A critical comparison in the healing of surgical incisions closed with sutures or adhesive type based on tensile strength and clinical and histological criteria., *Arch. Surg.* 93 : 911-329, 1966.
 44. Pilikin, A. S., et al. : "Effect of helium-neon laser radiation on the microcirculation of the oral mucosa"., *Stomatologia(Mosk)*, 63 : 12. 1984.
 45. Schilling, J. A. : Wound Healing *Physiol. Rev.* 48 : 394-423, 1968.
 46. Shafer, W. G., Hine, M. K., Levy, B. M., Tomich, C. E. : A textbook of oral pathology 4th Ed, Saunder Co. Philadelphia, USA, pp594-614, 1983.
 47. Sloan, P., Schor, S. L., Loper, V., Chiquet-Ehrismann R. : Immunohistochemical study of heterogeneity of tenascin distribution within the oral mucosa of the mouse., *Arch. Ora Biol.* 35 : 67-70, 1990.

48. Smuckler, E. A., Iseri, O. A., Benditt, E. P. : Studies on carbon tetrachloride intoxication., *Lab. Invest.* 13 : 531-538, 1964.
49. Tervo, K., Setten, G. B., Beuerman, R. W., Tarkkanen, V. A., Tervo, T. : Expression of tenascin and cellular fibronectin in the rabbit cornea after anterior keratectomy., *Invest Ophthalmol. Visual Sci.* 32 : 2912-2918, 1991.
50. Urazalin, Z. B., Antipova, Z. P. : Effect of monochromatic red light on mandubular fracture healing., *Stomatological.* 57 : 5-9, 1978.
51. Uitto, J., Olsen, D. R., Fazio, M. J. : Extracellular matrix of the skin : 50 years of progress. *J. Invest, Dermatol.* 92 : 61S-77S, 1991.
52. Van Winkle, W. Jr., Hasting, J. C., Hines, D., Nichol, W. : Effect of suture materials on healing skin wounds., *Surg. Gynecol. Obstet.* 140 : 1-7, 1975.
53. Vaughan, L., Huber, S., Chiquet, M., Winterhalter, K. H. : a major size armed alycoprotein from embryonic cartilage., *EMBO(Eur. Mol. Biol. Organ.) J.* 6 : 349-353, 1987.
54. White, B. N., Sheltar, Schilling, J. A. : The glycoprotein and their relationship to the healing of wounds., *N. Y. Acad. Sci.* 94 : 297-397, 1961.
55. Whitby, D. J., Ferguson, W. J. : The extrocellular matrix of lip wounds in fetal, neonatal and adult mice., *Devleopment* 112 : 651-668, 1991.
56. 김기석, 김영구, 정성창 : 저출력레이저광선이 백선연조직 창상치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, *대한구강내과학회지*, 19 : 91-99, 1985.
57. 이창우 등 : 저출력레이저 조사가 치은염증에 미치는 영향에 관한 연구, *조선대학교 석사학위논문*, 1986.

사진부도

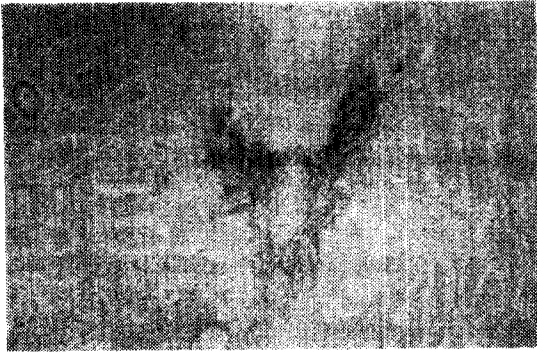


Figure 1. $\times 60$



Figure 2. $\times 80$

Figure 1. Histologic appearances of incisional wound of buccal mucosa, control group (Immunohistochemical staining, 4 days after incision) $\times 60$; Tenascin staining appears below the regenerative epithelium and spreads into the connective tissue areas. More intensive staining of tenascin is observed in the regenerative epithelial areas.

Figure 2. Histologic appearances of incisional wound of buccal mucosa, experimental group (Immunohistochemical staining, 4 days after incision) $\times 80$; Complete-epithelialization is found. Intensive staining of tenascin is observed in the necrotic and the granulation tissue areas.

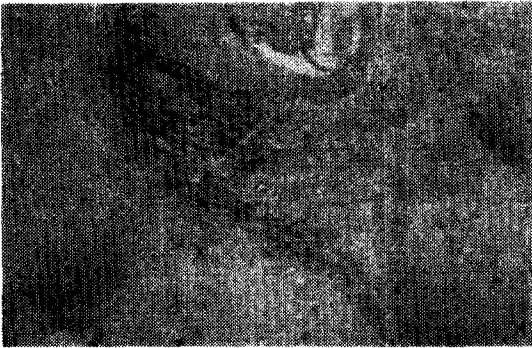


Figure 3. $\times 100$

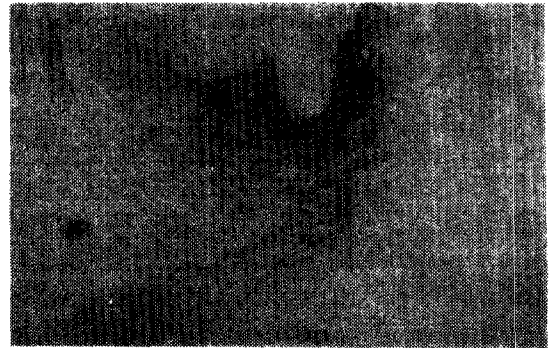


figure 4. $\times 100$

Figure 3. Histologic appearances of incisional wound of skin control group (Immunohistochemical staining, 7 days after incision) $\times 100$; Complete-epithelialization is found. Appearance of tenascin is increased quantitatively in proportion to wound healing process.

Figure 4. Histologic appearances of incisional wound of skin, experimental group (Immunohistochemical staining, 7 days after incision) $\times 80$; Complete-epithelialization is found. Intensive staining of tenascin is observed below the epithelium and in the granulation tissue areas.

Effect on Tenascin Expression of Low Power Generating LASER Irradiation during Wound Healing Process

Sang-bae Kim, D.D.S., Chong-Youl Kim, D.D.S., M.S.D., Ph. D.

Department of Oral Medicine and Oral Diagnosis, Yonsei University

ABSTRACT

The purpose of this paper was to observe the influence of Ga-As semiconductor-low power generating laser on the appearance and actions of tenascin, extracellular matrix, as healing process of intentional wound on the experimental animals is taking place. 35 rabbits were divided into control and experimental groups, and on each, 3mm-long and 2mm-deep surgical wounds were created on buccal oral mucosa and thoracodorsal portion of skin. Ga-As laser was applied to the experimental group starting a day of the day the wounds were created ; the laser was applied for 5 minutes every other day. Tissue samples were taken after the 2, 4, 7, 10, and 14 days after wound formation. Then the healing process of experimental and control groups were observed and compared, using light microscope. Afterwards, the samples were immunohistochemical stained and again observed tenascin by quantitative measuring.

The following results were obtained :

1. Tenascin was observed prevalently on epithelial cells, border area of dermis, and interstitial matrix between connective tissue layers in both experimental and control groups.
2. In oral mucosa, the experimental group showed significant increase in the appearance of tenascin after 4 days compared to the control group, but after 10 days, it decreased to a point which is even less than the control group.
3. In the skin samples, the pattern of appearance of tenascin was the same in both groups, but there was some difference concerning when the peak period was shown. In the experimental group, the peak period of tenascin expression was the 7 days after wound formation in epithelium and connective tissue. In the control group, the peak period was 10 days after.
4. In both the experimental and control groups, tenascin first appeared in the epithelium near the wound area and submucosa, and then spread on the underlying connective tissue.

In conclusion, appearance of tenascin is closely related to regeneration of epithelium and development of granulation tissue ; therefore, low power laser, which fastens appearance of tenascin, is sure to facilitate healing process of oral mucosa.

Keywords : Ga-As laser, surgical wound, tenascin appearance, epithelium, connective tissue, wound healing process.