

세포 증식에서 3mW 반도체 레이저 조사가 미치는 효과

천민우*, 박용필**, 이호식*, 김태곤**, 김영표**

*동신대학교 병원의료공학과, **동신대학교전기전자공학과

The Effect of 3mW Semiconductor Laser Irradiation on Cell Proliferation

Min-Woo Cheon*, Yong-Pil Park**, Ho-Shik Lee*, Tae-Gon Kim**, Young-Pyo Kim**

*Dept. of Hospital Biomedical Engineering, Dongshin Univ

**Dept. of Electrical and Electronic Engineering, Dongshin Univ.

E-mail : yppark@dsu.ac.kr

요 약

단색성, 지향성 및 고휘도의 특성을 가지는 레이저는 광의료 분야에 적용되어 다양한 치료 분야에 사용되고 있다. 그 중 특정 파장의 빛이 세포를 자극하여 활성화 시키는 효과가 밝혀지며 레이저를 이용한 치료법이 각광 받기 시작했다. 하지만 기존에 사용되는 저출력 레이저는 매우 고가이며 사용이 어려운 단점을 가지고 있다. 본 연구에서는 다양한 파장 및 출력의 발생이 가능한 반도체 레이저를 이용하여 세포 활성화 및 증식이 가능하도록 레이저 다이오드 조사기를 개발하고 이를 사용하여 세포 활성화에 미치는 영향을 확인하였다.

ABSTRACT

This paper performed the basic study for fabricating the low level laser therapy apparatus, and one of the goals of this paper was to make this apparatus used handily. The equipment was fabricated using the 655nm laser diode and microcontroller unit and designed to enable us to control light irradiation time, and reservation.. In case of cell proliferation experiment, each experiment was performed to irradiation group and non-irradiation group for bone marrow cell. MTT assay method was chosen to verify the cell increase of two groups and the effect of irradiation on cell proliferation was examined by measuring.

키워드

Low level laser therapy, Cell proliferation, MTT, Irradiation

I. 서 론

레이저는 자연광과는 달리 독특한 특성을 지니고 있어 다양한 분야에 이용되고 있다[1]. 특히 의료용으로 사용되고 있는 레이저의 대표적인 예로 저출력 레이저 치료(Low Level Laser Therapy)를 들 수 있으며, 저출력 레이저의 특정 파장의 빛이 세포의 기능을 자극하여 활성화시킨다[2]는 사실이 밝혀짐으로 세계적으로 저출력 레이저 치료법이 각광받기 시작했다. 이후 세포의 정상화, 상처치유 및 세포 증식 등 다양한 연구가 진행되어 그 효과가 실험적으로 입증[3,4]되어 의료사용 범위가 확대되고 있다. 본 연구에서는 기존에 사용되던 고가의 저출력 레이저가 아닌 광통신 및 실생활에서 쉽게 접할 수 있는 반도체 레이저를 이용하여 반도체 레이저 조사가 세포에 미치는 효과를 확인하였다.

II. 본 론

제작된 레이저 조사 시스템은 반도체 레이저의 탈부착이 가능하도록 케이블을 이용한 커넥터 형태로 제작하여 다양한 파장의 레이저 조사가 용이하도록 제작되었다. 제작된 기기는 안정적인 전원을 공급하기 위한 Power source부, 조사조건 설정에 대한 제어신호를 발생하는 Function input부, 현재 기기의 상태의 표시가 가능한 Display부로 나뉘며 이러한 전반적인 동작이 가능하도록 제어를 담당하는 MCU(Micro-Controller Unit)로 구성되어 있다. 광의 조사는 1~60 분까지 분 단위 설정이 가능하며 자극효과 증진을 위해 1~10 Hz의 점멸조사 및 지속조사가 가능하도록 구성되어 있다. 사용자의 설정된 조사조건에 따라 기기의 중앙 처리부인 MCU에서 미세전류가 생성되며 이는 전류 증폭부를 거쳐 반도체 레이저의 구동에 맞게 증폭되며 케이블을 이용해 반도체레이

저에 공급된다. 다음 그림 1에 제작된 기기의 구성도를 나타냈다.

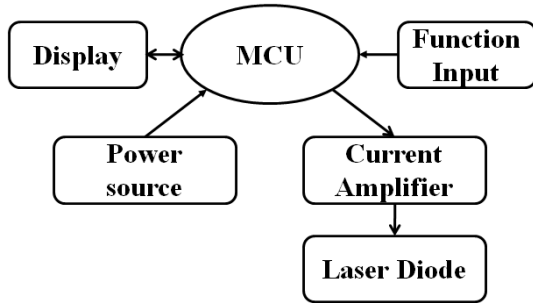


그림 1. 기기의 구성도

실험에는 3-Laser Technology 社의 655nm, 785nm, 850nm 파장을 가지는 반도체 레이저를 사용하였다. 반도체 레이저 각각의 출력은 3mW 급이며, 광의 도포를 위해 집진렌즈를 제거한 후 사용하였다.

III. 광조사 실험

특정 파장의 반도체 레이저의 광조사가 세포의 활성화에 미치는 영향을 비교하기 위해 광을 조사하지 않은 비조사 그룹과 655 nm, 785 nm, 850 nm의 광조사 그룹으로 나누어 실험하였으며 광조사 그룹의 실험 조건을 표1에 나타냈다.

표 1. 광조사 실험 조건표

Cell type	Tissue cell
Wavelength	655nm, 785nm, 850nm
Light intensity	3.0 ± 10 % mW/cm ²
Irradiation time	5 min / day for 2 days
Wave type	Continuous wave
Temperature	37 °C
Humidity	95 %
CO ₂	5 %

사용된 세포는 만삭인 SD Rat의 태아 피부조직을 Primary culture를 통해 획득하였으며, CO₂ 인큐베이터에서 혼합배지를 사용하여 배양한 Passage 4~5의 세포를 사용하였다. 실험에 사용하기 위한 세포의 Seeding은 culture dish에서 배양 중인 조직 세포의 배양액을 제거하고 PBS (Phosphate Buffered Saline: GibcoBRL, UK)로 2회 세척한 후 0.05 % Trypsin-EDTA 1.5 ml로 세포를 dish에서 회수하였다. 회수된 세포 현탁액을 원심 분리하여 조직 세포만 분리한 후, 6 Well plate의 1개 Well 당 1 × 10⁶ 개의 세포가 들어가도록 세포 현탁액의 볼륨을 조절하여 분주하여 사용하였다. 광조사는 세포의 Seeding 후 24시간 안정화 시킨 후 조사하였으며 광의 조사는 24시간 간격으로 5분씩 2회 조사하였으며, 광에 의한

간섭을 피하기 위해 광조사 시에만 별도의 인큐베이터에서 조사를 행하였다.

IV. 결 론

반도체 레이저의 파장에 따른 광조사가 세포 증식에 미치는 영향을 확인하기 위해 동일조건에서 배양한 비조사 그룹과 광조사 그룹을 광 조사 완료 24시간 이후 MTT Assay 법을 시행하였다. 실험에 사용한 MTT assay 법은 측정 대상에 PBS ml 당 5 mg의 MTT(Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide, approx. 98 % : SIGMA-ALDRICH, Inc) 분말을 용해시킨 MTT 수용액을 400 μl 씩 넣어 희석시켜 주고 4.5 시간 인큐베이션 후 10 % SDS(Sodium Dodecyl Sulfate : Fluka, Inc) 수용액을 2 ml 씩 넣어 주었다. 사용된 SDS는 계면 활성용액으로 세포막을 녹여 MTT 반응이 빠르게 일어나도록 하는 역할을 한다. SDS 첨가 후 12 시간 동안 다시 인큐베이션 하였으며 96 well plate에 220 μl 씩 옮겨 측정하였다. 측정은 Molecular Device 社의 Microplate reader인 VERSA MAX의 590 nm 파장을 이용하여 흡광도를 측정하여 그림 2에 그 결과를 나타냈다.

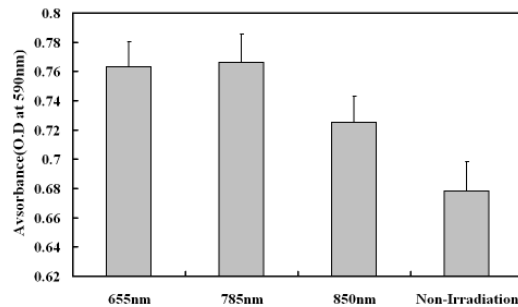


그림 2. 흡광도 비교

MTT는 단지 생 세포에서만 분해되어 청자색의 Formazan으로 환원되는데 이러한 현상을 이용해 흡광도를 비교하여 세포 증식을 평가에 사용된다. 실험을 통해 785nm, 655nm 850nm, 비조사 그룹 순으로 높은 흡광도를 보였다. 즉 광조사 그룹 모두 비조사 그룹에 비해 흡광도가 높아 특정파장의 반도체 레이저의 광조사가 세포증식에 효과를 미치는 것을 확인하였다.

참고문헌

- [1] O. Svrlto, "Principles of laser", 2nd ed(N.Y: Plenum press) p. 269, 1982.
- [2] T. Karu, Health. Phys. Vol. 56, p. 691, 1989.
- [3] B. Beauvoit, T. Kitai, and B. Chance, Biophys. Vol. 67, p. 2501, 1994.
- [4] B. Beauvoit, S. M. Evans, and T. W. Jenkins, Anal. Biochem. Vol. 226, p. 167, 1995.