

저출력 레이저 조사 백서구강점막 창상부 Langerhans 세포에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

¹⁾조선대학교 치과대학 구강병리학교실 ²⁾미시간 대학교 치과대학 구강병리학 교실

¹⁾조재오 · ²⁾C. T. Hanks

Experimental study on the effect of low energy laser irradiation in Langerhans cell of Lanaged rat oral mucosa

Jae-O Cho¹⁾, Carl T. Hanks²⁾

¹⁾Dept. of Oral Path. Chosun Univ.

²⁾Dept. of oral Path. Univ. of Michign

The purpose of this study was to observe the histological alteration of Langerhans cells on wound healing process in applying low energy laser irradiation.

For this study, 50 Spraque-Dewly rats, weighing 150Gm or more were divided into control, experimental control group(0), 47.5Hz(1), 190Hz(3), 380Hz(5), 760Hz(7), lased group.

All the experimental animals were made excision wound on buccal mucosa, 2mm depth, and lased with stoma laser (904nm, semiconductor type ASGaAl, Sedalac France) 47.5Hz, 380Hz, 960Hz, 3minutes one time respectively except experimental control group.

After the experiment, experimental animals were sacrificed after 24hours, 48hours, 72hours on each.

Taken specimens were embedden in paraffin, sectioned 6-8u in thickness. And the langerhans cell were detected using ant S-100 protein antibody, and histochemically processed with Avidin Biotin complex method.

All the Langerhan cells were calculated under light microspe in 400 multiplication field and standard deviation, probability test between each group were evaluated using statistical analysis system(S. A. S)program.

Following results were obtained.

- 1. Langerhan cells were increased in experimental control group compare to that in control group($P < 0.01$).*
- 2. 24hour after experiments, Langerhans cell were decreased compare to that in control group and control experimental group 5, 1, 3.*

Probability test shows significance between control experimental and 5, 1, 3 group on $\alpha = 0.05$ range.

- 3. 48hour after experiment, Langerhans cells were decreased compare to that on experimental control group, and probability test shows significance between control experimental and 3, 7, 5 group on $\alpha = 0.05$ range.*

4. 72hour after experiments, Langerhans cells were decreased compare to that on experimental control group and probability test on group comparison shows signifitcance between control experimental and 1, 5 and 1 between 3, 7 between 3, and 5, between 7, respelively on $\alpha=0.05$ range.
5. Langerhans cells number in experimental group were decreased compare to that on experimental control group in applying laser irradiation.

I. 서 론

Einstein에 의해 발견된 laser는 1960년 Maiman에 의해 ruby laser가 개발되어 다양하게 의학에 이용되고 있고³²⁾고 energy laser는 생체 조직절개에도 유용하게 사용되나 조사조직의 응고피사와 인접조직에 부수적인 부작용을 초래시킬 수 있다^{33, 34)}.

그러나 1969년 Mester등³⁵⁾에 의해 소개된 저 energy레이저는 연조직 및 경조직 창상 치유의 촉진^{5, 15, 29, 30, 33, 34, 36)}, 과민상아질과 구강괴양 통증의 진정 효과⁴¹⁾ 및 맥관 문합 및 지혈효과²⁴⁾, 신경 손상조직의 치유 촉진²⁾ 등의 다양한 연구보고가 있다.

창상조직의 치유는 실험동물에서 ruby레이저 조사후 맥관의 항진^{1, 6)}, 효소의 활성화 교원질 합성³⁴⁾ 및 백혈구의 탐식작용 촉진등의 반응이 보고된 바 있다.

또한 저출력 레이저 조사는 실험적으로 유발한 치주염에서 염증 소견을 감소시켰으며 신생 교원질 형성의 증가와 파골세포의 활성화를 감소시켰음이 보고된바 있다^{3, 4, 15)}.

Langerhan 세포(LC)는 1868년 Paul Langerhans³¹⁾에 의해 피부의 염화류 염색조직에서 발견된 수지상 세포로 상피 기저층과 주세포층에서 발견되었으며 그후 다수의 포유류의 구강 편평상피 세포층에서 발견되었고 또한 피부, 치은, 자궁경부, 임파결절, 흉선에서도 존재하는 것으로 알려져 있다^{44, 57)}.

LC는 수지상 세포계에 속하며 Birbeck 과립을 갖는 LC와 임파조직의 Tcell부근에 위치하는 함몰형세포, 수입부 임파관에서 보이는 Veliled 세포등이 포함되나 같은 수지상계의 상피의 melanocyte와는 다른 기원을 갖는다^{9, 11, 12)}.

LC는 골수에서 기원하여 상피로 이주하고 상피 LC는 유사 분열상을 나타낸다^{27, 28, 36)}.

노쇠한 LC는 함몰형 핵 백혈구에 의해 분해된다^{12, 13)}.

특히 저출력 레이저에서 나타날 수 있는 항염증 반응은 Langerhan 세포의 파괴에 기인할 수 있다는 보고가 있었다¹⁰⁾.

저자는 저출력 Laser 조사가 Langerhans세포의 분포에 영향을 미치는지에 대하여 백서의 구강 점막 창상 상피를 이용한 실험에서 약간의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험 재료

생후 1개월이내의 체중 150g 정도의 Sprague-Dewley계 백서 50마리를 동일한 조건하에서 배합 사료로 사육하였다.

2. 실험 방법

대조군을 제외한 전 실험 동물에 체중 Kg당 5mg의 Ketalor(Ketamine HCl)을 근육주사하여 전신마취 한후 좌우측 협점막에 2mm정도 깊이의 절개창을 가하고 대조실험군(0) 47.5Hz 조사군(1), 190Hz

Table 1. Staining Steps in Immunohistochemistry

- | |
|--|
| 1) Deparaffinization in xylene |
| 2) Hydration in a lcohol |
| 3) PBS Rinsing |
| 4) Block endogenous peroxidase with 80% methanol containing 0.6% H ₂ O ₂ |
| 5) Serum blocking agent |
| 6) Primary antibody |
| 7) Biotinylated secondary antibody |
| 8) ABC reagent |
| 9) Chromogen & substrate Gdiaminabenzidin & 0.03% H ₂ O ₂) |
| 10) Mayer's hematozylin |
| 11) Mounting using glycerol gelatin |

조사군(3), 380Hz 조사군(5), 960Hz 조사군(7)으로 분류하여 대조실험군에는 laser AsGaAl 904nm semiconductor(일불 sedalac)를 조사하지 않고 각 laser 조사군에는 1일 1회 3분씩 조사하였다.

레이저 조사후 24시간, 48시간, 72시간 경과한후 각각 3마리씩 희생시켰다. 채취한 조직은 통법에 의해 paraffin 포매하고 6~8u 정도의 조직 절편을 만든후 hematoxylin eosin 2중 염색과 ABC(Avidin

biotin complex) 방법(ABC AP. for rabbit Ig G, AK 5010, Vector Lab)에 의한 S-100 단백 염색(AHP 385 Bioproduct제)을 시행하였다.

염색된 Langerhan 세포는 400배 현미경시하에서 각 조직 절편에 분포한 수를 산정하고 산술평균, 표준편차 및 각각의 t. Test를 시행하여 S. A. S(statistical analysis system)을 이용하여 유의성을 검정하였다.

III. 실험성적

1) 대조군 대조실험군의 Langerhan 세포 분포 및 표준 편차

(Table 1) Langerhan cells distribution in each group per 400 multiplication microscopic field (Mean \pm S. D)

| control | N | Mean \pm S. D | | | | |
|----------|----|---------------------|----|---------------------|----|---------------------|
| | 45 | 4.1778 \pm 4.8161 | | | | |
| Ex.group | N | after 24hr | N | after 48hr | N | after 72hr |
| 0 | 20 | 8.1500 \pm 3.2489 | 20 | 7.5500 \pm 3.3003 | 20 | 8.1500 \pm 3.8655 |
| 1 | 21 | 5.1905 \pm 3.5160 | 20 | 6.1500 \pm 3.5876 | 20 | 4.3500 \pm 2.7961 |
| 3 | 20 | 4.7500 \pm 4.4774 | 20 | 5.6000 \pm 3.7473 | 14 | 7.1429 \pm 3.0598 |
| 5 | 20 | 5.5500 \pm 3.6343 | 15 | 4.2000 \pm 2.1448 | 20 | 3.5500 \pm 2.6848 |
| 7 | 20 | 6.8500 \pm 3.5138 | 17 | 5.4118 \pm 1.6605 | 20 | 7.2500 \pm 3.4622 |

2) 대조군과 대조실험군 간의 Langerhan 세포수의 비교

| Control | | N | Mean \pm S. D |
|------------|------|----|--------------------------|
| | | 45 | 4.1778 \pm 4.8161 |
| Exper.cont | 24hr | 20 | 8.1500 \pm 3.2489 **** |
| | 48hr | 20 | 7.5500 \pm 3.3003 **** |
| | 72hr | 20 | 8.1500 \pm 3.3655 **** |

***P<0.01

3) 각 군간의 분산 분석과 평균치 비교

| Group comparison | Lower confidence limit | Difference between means | Upper confidence limit |
|------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
| 0~5 | 0.415 | 2.600 | 4.785*** |
| 0~1 | 0.801 | 2.960 | 5.118*** |
| 0~3 | 1.215 | 3.400 | 5.585*** |
| 5~0 | -4.785 | -2.600 | -0.415*** |
| 1~0 | -5.118 | -2.960 | -0.801*** |
| 3~0 | -5.585 | -3.400 | -1.215*** |

***P<0.05

(2) Laser 조사후 48시간 경과후 각 조사군 간의 비교

| Group comparison | Lower confidence limit | Difference between means | Upper confidence limit |
|------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
| 0~3 | 0.012 | 1.950 | 3.888*** |
| 0~7 | 0.117 | 2.138 | 4.160*** |
| 0~5 | 1.257 | 3.350 | 5.443*** |
| 7~0 | -4.160 | -2.138 | -0.117*** |
| 5~0 | -5.443 | -3.350 | -1.257*** |

***P<0.05

(3) Laser 조사후 72시간 각조사군 간의 Lemgerhans세포수의 비교

| Group comparison | Lower confidence limit | Difference between means | Upper confidence limit |
|------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
| 0~1 | 1.900 | 3.800 | 5.700*** |
| 0~5 | 2.700 | 4.600 | 6.500*** |
| 7~1 | 1.000 | 2.900 | 4.800*** |
| 7~5 | 1.800 | 3.700 | 5.600*** |
| 3~1 | 0.700 | 2.793 | 4.886*** |
| 3~5 | 1.500 | 3.593 | 5.686*** |
| 1~0 | -5.700 | -3.800 | -1.900*** |
| 1~7 | -4.800 | -2.900 | -1.000*** |
| 1~3 | -4.886 | -2.793 | -0.700*** |
| 5~0 | -6.500 | -4.600 | -2.700*** |
| 5~7 | -5.600 | -3.700 | -1.800*** |
| 5~3 | -5.686 | -3.593 | -1.500*** |

***P<0.05

IV. 총괄 및 고안

LC의 검출을 위해서는 세포막에 결합하고 formalin에 장애 받지 않는 ATP-ase가 인체 LC 검출을 위해서는 유용하며 설치류에서는 ADP ase 활성화가 우수한 방법으로 알려져 있다.

이런 방법에 의해서 LC는 상피의 기저세포상층에서 주로 발견되며 회유하게는 기저층에서도 발견된다¹⁴⁾.

전자현미경적인 검출방법에 가장 신빙성이 있는 것으로 알려져 있으며 그 특징으로는 LC 과립, 투명 세포질, 분열된 핵과 melanocyte, keratinocyte등에서 특징적으로 나타나는 세포 성분(cellular organelle)의 결핍등으로 특징지워진다^{7, 8, 9, 12, 13, 57)}.

LC의 전자 현미경적 구조로는 Birbeck Granule이 특수한 표시인자인데, 횡문을 갖는 정구체 모양을 나타내기도 한다. 이들의 기원과 기능에 대해서는 불명이나 receptor-mediated endocytosis에 관여하는 것으로 알려져 있다¹²⁾.

또한 LC의 전자현미경적 구조로서는 함몰된 핵, Birbeck 과립, tonofilament의 결손, golgi장치의 발육, desmosome의 결핍, uer세포질이 melanosome이나 premelanosome의 결핍등이 특징을 들 수 있다^{9, 13, 18, 19, 25, 26, 31)}.

또한 LC의 검출 방법으로 LC세포의 표면이나 세포질에 있는 antigen을 이용한 면역 형광적 또는 면역 peroxidase방법이 이용되며 이에 이용되는 표시인 자로서는 ATPase⁵⁷⁾, HLA-DR⁴⁸⁾, Fe-IgG⁵³⁾, C3b/c4

b⁵²), S-100^{16, 45}), CD1a³⁷), CD4⁵⁸), CD45²⁰), CD25⁵¹), HLA-DQ⁵⁶), Lag, CD29⁴⁵), LLA-DP^{55, 58}), CD54¹⁸) 이 각각의 목적에 따라서 이용되나 S-100이 인체 상피 LC의 집중에 가장 잘 이용된다.

본 연구에 사용된 S-100단백 항체를 이용한 염색법은 1985년 Difranco¹⁹)과 1985년 Charbikl¹⁴)의 해구강 점막에서 시행되었는데 Difranco¹⁹)은 LC의 수지상 돌기를 확실히 관찰할 수 없으나 핵이 상당히 농염된다고 보고한 반면 Charbit¹⁴)는 여기서 동시에 염색되는 흑색세포와의 구별점을 다음과 같이 보고하였다.

기저세포층이 상방에 존재하며, 전체 세포체가 잘 관찰되며, 한개 이상의 수지 상동기가 존재한다. 특히 S-100 단백을 이용한 방법은 종래의 방법처럼 동결 표본을 필요로 하지 않으며 통법의 파라핀 block에서 시행할 수 있어 획기적 연구에는 가장 적합하다고 생각된다. 그리고 또한 이 방법이 Regezi⁴⁵) 이 밝힌 바와같이 점막하결체조직과 상피의 경계가 불확실한 LP에서는 HLA-DR보다 더 좋은 것으로 알려져 있다^{16, 17, 18, 37, 45}).

면역학적 역할에 대해서는 LC는 다른 수지상 세포와 Macrophage와 유사한 면역 기능을 갖는 특수 세포이다. 실제로는 LC는 macrophage나 B세포, 다른 수지상세포 같은 항원 표시세포(Antigen presenting cell)에서와 같은 유사한 방법으로 이주하고 항원을 이용할 수 있다^{11, 12, 13, 18}).

즉, 항원표시 세포와 같이 LC 세포는 표면에서 MHC class와 항원을 표시하며 이러한 분자들을 통해 T세포에 항원을 나타낼 수 있으며, 이는 항원 특수 T세포의 활성화를 유도하는 현상이 개재된다^{11, 20, 58}).

T세포는 항원 자체를 인지하지는 못하는 것으로 알려져 있다. 우선 APCs에 의해 취해지며 MHC 분자의 표면에서 단백분해 소화에 의해 붕괴되고 재표현된다. 세포는 Class I 또는 Class II 분자와 연계된 epitope의 형태하에서 항원을 인지한다^{11, 55, 58}).

구강 점막의 병리학적 변화로 치은염이나 치주염시 치은에서 LC는 치은상피 치은열구상피, 경계부 상피부에서 출현한다. LC는 기저세포 상층과 극세포층에 위치한다. 경계부 상피에는 2가지 유형의 LC 세포가 나타나는데 한가지는 구형의 작은 소량의 %를 갖고 CD1a(T6), 항원에 약염되며 다른 하나는 중

등도 길이의 수지를 갖고 CD1a(T8)항원에 대한 다양한 형광 반응을 나타낸다^{29, 38, 40, 47, 49, 50, 56}).

LC는 건강하거나 질환이 있는 치은에서 수와 표면항원 발현에 다양한 차이를 나타낸다^{13, 38, 39, 56}

LC는 무균백서에서 구강세포의 발생과 관련되어 치은에서 증가하며, 또한 인체의 실험적 치은염에서 치태의 침착과 LC의 증가 사이에는 일정한 상관관계를 유지하고 있었으며 이러한 사실은 다른 연구자에 의한 면역조직 화학적인 방법으로도 증가되었음이 확인되었다. 이는 T6와 HLZ-DR의 항원에 작용하며, 중등도의 치은염증에서 LC는 증가하고 치주질환에서는 감소함을 보여준다^{13, 38, 48}).

LC는 치주질환의 모든 시기동안 항체의 개재시 중요하다. 치태 축적에 의해 LC의 수의 증가를 초래하는 기전에 대해서는 잘 알려져 있지 않으나, 치주질환에 있는 환자에서 세균이 구강 점막에 침윤되고 LC의 수의 증가를 초래하는 것으로 알려져 있다. 치주질환에서는 HLA-DQ 항체에 비해 HLA-DR항체의 발현이 더 중요함은 LC의 macrophage나 각 화세포에 의해 나타나는 IL-1의 사용으로 LC가 초기에 사용됨이 설명된다^{13, 38, 39, 48, 51, 58, 57}).

Lichen planus는 세포에서 유래되는 면역 작용(Cell mediate immune reaction)의 조직손상에 의해 초래되는 만성 점액 피부질환이다. 전자현미경적, 광학현미경적 연구에서 이 질환의 초기에 상피내 LC의 축적을 보았으며 면역 화학적으로 Lichen planus는 특별한 항원에 의해서 LC와 Macrophage, 임파구의 출현으로 특징지워진다. 그러나 면역 조직화학적 연구결과로는 정상 점막에 비해 Lichen planus시의 LC수의 증가 및 감소에 대해서는 상반된 다양한 연구 보고가 있다. 최근 연구로는 Lichen planus시 CD1, HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ 양성 LC세포는 정상세포에서와 유사하나 HLA-DP, HLAA-DQ 양성 세포는 정상 점막에 비해 증가된다^{45, 48}).

Lichen planus에서, LC와 helper T세포 항원 형성에 중요한 역할을 하며, 초기 면역 반응을 유도한다. 반면 T세포는 기저세포의 용해에 관여하는 듯하다. 이는 세포에서 유래하는 면역반응이 중요하게 관여하는 것으로 알려져 있다^{45, 48}).

Histiocytosis X는 LC의 비정상적인 증식에 기인될 수 있다고 보고되었다. 이 설은 Histiocytosis X병

소에서 S-100단백질과 Ia항원 출현시 CD1a(T6)와 HLA-DR항체에 부착된 세포와 Birbeck 과립의 증명으로 설명된다^{20, 23, 37}).

또한 이러한 병적 병소에서는 비특이성 esterase와 acid Phosphatase와 ATP등이 국소화되어 있다. 그러나 histiocytosis와 LC의 증식은 명확히 설명될 수 없다³⁷.

구강암의 90% 이상은 편평상피세포 암종이며 구강의 어느곳에서도 발생할 수 있으나 혀와 구순부가 가장 빈번하게 나타난다. 각화세포증의 LC세포의 증가는 이 세포가 상피나 점막으로 부터 발생하는 악성 종양에 대한 생체 방어에서 역할을 하는 것에 대한 의문점을 제기 한다. 구강암에서 암종상피의 LC, Macrophage, CD8림파구의 증가가 보고된 바 있다³⁷.

암종세포에 근접하는 실질과 암종과 떨어진 결체 조직에서도 CD8림파구와 LC세포의 증가가 보고되었다. 이는 암종의 LC가 림파구에 대한 항체에 의한 과민 방의의 경우에서도 동일한 역할을 하는 것으로 사료된다^{57, 58}).

림파구의 감작후에 결국은 상피 암세포를 소멸시킬 수 있으며 이는 LC와 림파구가 상피암종세포의 액화 변성을 일으키는 조직학적인 양성으로도 증명될 수 있다^{42, 43}).

레이저가 Maiman에 의해³²) 1960년 처음 개발된 이래 광생물학적 효과에 대해 많은 연구가 있어 왔다. 고 에너지 레이저는 여러조직을 파괴시키며^{21, 22}), 이는 조사 조직에 흡수된 energy가 열로의 전환에 기인되는 것으로 알려져 있다. 따라서 그 결과로 유리를 만들고 압력 및 충격 파장 현상이 나타나고, 전기 자기적, 광화학적 변화가 나타나게 된다. 고 에너지 레이저는 생체조직의 절개에는 유용하나 조사조직의 응고괴사와 주위조직에 부수적인 부작용을 초래한다^{21, 22}).

그러나 다양한 창상 치료를 위해 저에너지 레이저가 탁월한 치료효과가 있음을 1973년 Mester가 보고한 이래, 저 에너지 레이저의 광생물학적 및 광화학적 효과에 대해 많은 연구가 진행되고 있다^{33, 34}).

이 파장은 상피화의 촉진, 맥관 형성과 혈류량 증가의 유도, 섬유아 세포의 교원질 합성의 촉진, 백혈구 탐식 작용의 증가 항염증 효과등의 작용을

나타내었다. 또한 Hayashi등²⁴) Taguchi등⁵⁴)은 소모 세혈관 문합수술후 저출력 레이저 조사로 조직의 괴사 및 반응 형성의 감소와 순환장에서 나타난 만성 폐양에 저출력 레이저 조사가 치유를 촉진 시켰다고 보고하였고 Motomura등³⁶)은 과민성 상아질과 aphthous괴양의 진정 효과에 대해 연구 보고하였으며 Cho등¹⁵) James등은 저출력 레이저 조사가 구강점막, 치주조직, 악관절에 미치는 영향에 대해 임상적 및 실험적으로 연구보고한 바 있다.

한⁵)등 이등은 골창상시 저출력 레이저 조사가 가골형성과 창상치유과정을 촉진시켰다고 보고하였고 김등은 연조직 창상시 레이저 조사가 모세혈관 및 섬유아세포의 증식을 촉진하였다고 보고하였다.

손⁴)은 실험적으로 유도된 당뇨병 백서 치은에 나타날 수 있는 치은 상피와 결체적 및 모세혈관 세포의 공포 형성, 사립체 및 RER의 종창과 소포형성, 지방변성과 소모세혈관 기저막의 분리 및 비후등의 소견이 레이저 조사로 점차 개선됨을 보았고, 박²)은 실험적으로 신경섬유의 절단후 레이저를 조사함으로써 신경섬유의 재생속도를 촉진함을 연구보고한 바 있으며 Takeda은 저출력 레이저 조사가 악하선 도관세포에 영향을 미쳐 활성화를 나타내었다고 보고하였다.

또한 Goldman등²¹) Goldamn²²), Parr등⁴¹)은 저출력 레이저 조사가 반복적인 조사에 의해 상피세포의 이형성(atypism)을 초래할 수 있다고 보고한 바 있으며 Meester등^{96, 94})은 황⁶)등은 종양이 유발된 실험 동물에서 저출력 레이저 조사가 유사분열 지수와 종양세포의 전자 현미경적 조건에 현저한 영향을 미쳤다고 보고하였다.

레이저 조사가 LC에 미치는 영향에 대해서는 그 연구가 희유한 편이다.

Bending등¹⁰)은 인체의 피부를 60 MRI/nude 쥐의 등에 이식하고 632.8, 780, 904nm의 저출력 레이저를 각각 1~3분간 조사하고 조사후 72시간 경과후 조직을 채취하여 면역 조직 화학적으로 LC의 수를 검정한 결과 정상 상피에 비해 레이저의 파장의 종류에 따라 다양한 정도의 LC의 수의 감소를 보인바, 이는 레이저 조사가 LC를 파괴한데 기인한다고 보고하였다.

본 연구에서는 Spraghe-Dewley계 백서를 실험동물로 사용하여 904nm의 단일파장을 사용하였고 단

주파수를 변형하여 47.5Hz, 190Hz, 380Hz, 960Hz를 손상된 점막 조직에 1회 3분 조사한바, 대조 실험군에서는 정상 점막에 비해 LC의 수가 각시간대 공히 증가되었으며($p < 0.01$), 레이저 조사후 4시간 경과후 대조실험군에 비해 5, 1, 3 실험군에서 $a=0.05$ 수준에서 유의성 있는 감소를 보였다.

레이저 조사 48시간 경과후에는 대조실험군과 3, 7, 5 실험군과는 $a=0.05$ 수준에서의 통계적인 유의성을 보였고, 레이저 조사 72시간 경과후 실험군은 대조 실험군에 비해 감소되었고, 대조실험군과 1, 5 실험군, 1군과 3, 7군, 3군과 5군, 5군과 7군에서 각각 유의성을 보였다. 이상의 연구로 저출력 레이저 조사는 창상부의 LC세포의 분포를 유의 있게 감소시켰다고 사료된다.

V. 결 론

자자는 저출력 laser조사가 백서 구강 점막에 창상부와 Langerhan 세포분포에 미치는 영향을 구명하기 위하여 sprague Dawley계 백서를 이용하여 대조군 대조실험군, laser조사군으로 나누고 레이저 조사군은 다시 47.5Hz, 190Hz, 380Hz, 760Hz 조사군으로 분류하였다.

대조군을 제외한 실험동물은 협점막에 2mm깊이의 절개창을 가하고 실험군에서는 3분간씩 각각의 주파수를 1회 조사(904nm Semiconductor type As-GaAl Sedalac France)하였다.

실험동물은 실험제 24시간, 48시간, 72시간 경과 후 각각 희생시킨후 중성 formalin용액에 고정하고 통법에 의해 paraffin포매하고 6~8 μ 내외의 조직 절편을 제작하였다.

대조 염색으로 H-E 염색과 S-100 단백에 대한 항체를 이용한 ABC 방법(Vecter Co)을 이용하여 Langerhan 세포를 400배시야에서 검경하여 평균 및 표준편차를 구하고 SAS program(statistical analysis system)을 이용하여 각 실험군간의 유의성을 검정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군에 비해 대조실험군(0)에서의 Langerhan 세포의 수는 각 시간대 공히 증가되었으며 통계적 유의성을 나타내었다(< 0.01).
2. 레이저조사 24시간 경과후 LC의 수는 대조시�험군에 비해 감소되었으며 대조실험군과 5. 1. 3

실험군과는 $a=0.05$ 수준에서 통계학적인 유의성에 의해 감소되었다.

3. 레이저 조사 48시간 경과후 LC의 수는 대조실험군에 비해 감소되었으며, 대조실험군과 3. 7. 5 실험군과는 $a=0.05$ 수준에서 통계적인 유의성을 보였다.
4. 레이저 조사 72시간 경과후 LC의 수는대조실험에 비해 감소되었고 대조 실험군과 1, 5 실험군, 1군과 3. 7군 3군과 5군, 5군과 7군에서 각각 $a=0.05$ 수준에서 통계적인 유의성을 보였다.
5. 저출력 레이저 조사는 대조실험군에 비해 Langerhan세포의 분포를 유의 있게 감소시켰다.

Reference

1. 김용철, 조재오 : 저출력 레이저 조사가 가토 이식피부 세포성장 에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 구강생물학회지, 17.51-71, 1993.
2. 박용근 : "저출력 laser조사가 가토 좌골 신경에 미치는 영향에 관한 실험적 연구", 박사 학위 논문, 조선대학교, 1989.
3. 이용오 : "레이저 조사가 골창상 치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구", 대치협회지, 4, 1987.
4. 손주간 : "Alloxan유도 당뇨백서 치은에 저 energy laser가 미치는 영향에 관한 연구", 박사학위 논문, 조선대학교, 1989.
5. 한용열 : 레이저 조사가 구강연조직 창상 치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구", 박사학위 논문, 조선대학교, 1985.
6. 향효남, 조재오 : DMBA투여 백서치배에 저출력 laser조사가 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 구강생물학 연구 16, 77-96, 1992.
7. Ahlfors EE, Larsson PA, Bergstresser PR : Langerhans cell surface densities in rat oral mucosa and human buccal mucosa. J. Oral Pathol, 14 : 390-7, 1985.
8. Berman B. : Advances in the characterization of Langerhans cell structure and function. In : Fleishmajer R ed. Progress in diseases of the skin, New York, Grune and Stratton, 1983.
9. Birbeck, M. S. : Breathnach, A. S., and Everall,

- J. D. : An electron microscopic study of basal melanocytes and high level clear cells(Langerhans cells)in vitiligo. *J. invest Derm*, 37 : 51, 1961.
10. Bonding N., Erisen P, Graem N, Rygaard J. E. Dabelsteen : Low level laser induce destruction of Langerhans cells "in situ" *Wen Res. : Vol 69, Special issue 199, 1990.*
 11. Brasthen LR, Thorsby E. : Studies on human epidermal Langerhans cells. I. Allo-activating and antgen-presenting capacity. *Scand J Immunol*, 11 : 401-8, 1980. .
 12. Breathnach As, Silvers WK. Smith J. Heyner S. : Langerhans cells in mouse skin experimentally deprived of its neural crest components. *J Invest Dermatol*, 50 : 147-170, 1968.
 13. Breathnach AS. : Variation in ultrastructural appearance of Langerhans cells in normal human epidermis. *Br J Derm*, 97(suppl 15)j : 14, 1977.
 14. Charbit Y. Monteil RA, Hitzing C, Sauget P. Benaiche N, Jasmin JR. : S-100 immunolabeling of Langerhans cells in oral epithelium. *J. Oral Pathol*, 15 : 419-422, 1986.
 15. 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 : 601, 1986.
 16. Cocchia D, Michetti F, Donato R. : Immunochemical and immunocytochemical localization of S-100 antigen in normal human skin, *Nature*, 294 : 85-7, 1981.
 17. Daniels TE. : Human mucosal Langerhans cell : post mortem identification of regional variations in oral mucosa. *J. Invest. Dermatol*, 82 : 21-4, 1984.
 18. De Panfilis G, Manara GC, Ferrari C, Torresani C. : Adhesion molecules on the plasma membrane of epidermal cells : The intercellular adhesion molecule-1 is constitutively present on the cell surface of human resting Langerhans cells. *J Inves Dermatol*, 94 : 317-21, 1990.
 19. Difranco CF, Toto PD, Rowden G, Gragiulo AW, Keens J. Connelly E. : Identification of Langerhans cells in human gingval epithelium. *J. Periodontol*, 56 : 48-54, 1985.
 20. Flotte TJ, Murphy GF, Bhan AK. : Demonstration of T200 on human Langerhans cell membranes. *J. Invest. Dermatol*, 82 : 535-7, 1984.
 21. Goldman, L. and Richfield. D. F. : "The effect of repeated exposures to laser beam" case report of nine month period of observation, *Acta Derm. Venrol*, 44 : 264, 1964.
 22. Goldman, L. : "Biochemical aspects of the laser. The introduction of Laser application into biology and medicine. "Berlin spring verlag, 1967.
 23. Hanau D, Schmitt DA, Esposito-Farese Me, Gachet C. : Does the Langerhans cell cytoplasmic birbeck granule belong to a "continuous endosomal reticulum ? ", (Abstract)*Eur. Soc Dermatol. Res*, 21st. Annual meeting. Copenhagen 1991.
 24. Hayashi, N., Tsubokawa, K., and Stui, Y. : "Surgical techniques of the laser vascular anastomosis and thermal effects in the vascular well by CO2 irradiation" *J. of Japan Soc. of Laser Med.*, 4 : 181-184, 1984.
 25. Hitzing C. Charbit Y, Montell RA, Sauget P, Jonesco N, Jasmin JR. : Lacellule de Langerhans : un vecteur de l'immunité parodontale. *Journal de Parodontologie*, 5 : 35-9, 1985.
 26. Hutchens, L. H., Sagebiel, R. W & Claarke, M. A. : Oral epithelial dendritic cells of the rhesus monkey-histologic demonstration, fine structure and quantitative distribution, *J. Inves. Dermatol*, 56 : 325-336, 1971.
 27. Ishil M, Terao Y, Kitajima J, Hamada T. : Sequential production of Birbeck granules through adsorptive pinocytosis. *J. Invest, Dermatol*, 82 : 28-9, 1984.
 28. Katz Si, Tamaki K, Sachs Dh. : Epidermal Langerhans cells are derived from cells which

- originate in bone marrow *Nature*, 282 : 324–6, 1979.
29. Kovacs, I, Mester, E., and Gorog, P. : "Laser-induced stimulation of the healing wound. An ear chamber experiment", *Experimentia*, 30 : 341–343, 1974.
 30. Kovacs, I, Mester, E., and Gorog, P. : "Stimulation of wound healing with laser beam in the rat", *Experimentia* 30 : 1275–1276, 1974.
 31. Langerhans P. : *Über die Nerven der menschlichen Haut* : Virchows Arch, Abt. B, Path Anat, 44 : 325–37, 1868.
 32. Maiman, T. H. : "Stimulated optical radiation in ruby" *Nature* 6 : 493, 1960.
 33. Mester, E., Szende, B., Spiry, F., and Scher, A. : "Effect du laser dans la guérison des plaies" *Lyon Chir.*, 367 : 416–419, 1967.
 34. Mester, E. and Yaszgagi-Nagy, E. : "The effect of laser radiation on wound healing and collagen synthesis", *Studa Biophysica*, 35 : 227, 1973.
 35. Miyauchi S, Hashimoto K. : Epidermal Langerhans cells undergo mitosis during the early recovery phase after ultraviolet-B irradiation, *J Invest Dermatol*, 88 : 703–8, 1987.
 36. Motomura, K., Nakajima, Ihara, A., and Atsumi, K. : "Effect of various laser irradiation on callus formation after osteotomy" *J. of Jap. Sci. of Laser Med*, 5 : 2, 195–196, 1984.
 37. Murphy GF, Bhan AK, Sato S, Harrist TJ, Mihm MC Jr. : Characterization of Langerhans cells by the use of monoclonal antibodies. *Lab. Invest*, 45 : 465–8, 1981.
 38. Newcomb GM, Seymour GJ, Powell RN : Association between plaque accumulation and Langerhans cell numbers in the oral epithelium of attached gingiva. *J. Clin. Periodontol*, 9 : 297–304, 1982.
 39. Newcomb GM, Powell RN. : Human gingival Langerhans cells in health and disease. *J Periodontol Res*, 21 : 640–52, 1986.
 40. Okada H, Kida T, Yamagami H. : Identification and distribution of immunocompetent cells in inflamed gingiva of human chronic periodontitis. *Infect, Immun*, 41 : 365–74, 1983.
 41. Parr, W.H. and Fisher, R.S. : "Aberrant corneal epithelial cells produced by ruby laser irradiation." *Invest. Ophthalmol*, 6 : 356, 1967.
 42. Pelletier M, Perreault C, Landry D, David M, Montplaisir S. : Ontogeny of human epidermal langerhans cells, *Transplant*, 38 : 544–6, 1984.
 43. Perreault C, Pelletier M, Landry D, Gyger M. : Study of Langerhans cells after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, 63 : 807–11, 1984.
 44. Ranvier, L. : *Traite technique d'histologie* (Savy, Paris 1875).
 45. Regezi JA, Stewart CB, Loyd RV, Headington JT. : Immunohistochemical staining of Langerhans cells and Macrophage in oral lichen planus. *Oral Surg* 60 : 396–402, 1985.
 46. Rowden D, Lovas G, Shafer W, Sheikh K. : Langerhans cells in verruciform xanthomas : an immunoperoxidase study of 10 oral cases. *J Oral Pathol*. 15 : 48–53, 1986.
 47. Sagredo E, Pino A, Ibanez P. : Evaluation de l'état gingival par la quantification des antigenes T6(CD, a) et HLA-DR. *J Biol Buccale*, 18 : 163–8, 1990.
 48. Saglie FR, Pertuiset JH, Smith MT, et al : The presence of bacteria in the oral epithelium in periodontal disease. III. Correlation with Langerhans cells. *J periodont*, 58 : 517–22, 1987.
 49. Silberberg, I. : Studies by electron microscopy of epidermis after topical application of mercuric chloride. Morphologic and histochemical findings in epidermal cells of human subjects who do not show allergic sensitivity or primary irritant reactions to mercuric chloride(0.1%). *J. invest. Derm.* 56 : 147(1971a).
 50. Silberberg, I. : Ultrastructural studies of Langerhans cells in contact sensitive and primary

- irritant reactions to mercuric chloride. *Clin. Res.* 19 : 715(1971b).
51. Steiner G, Tschachler E, Tani M. : Interleukin 2 receptors on cultured murine epidermal langerhans cells, *J Immunol*, 137 : 559-9, 1986.
 52. Stingl GL. : New aspects of Langerhans cells functions, *Int J Dermatol*, 19 : 186-213, 1980.
 53. Stingl G, Katz SI, Green I, Shevach EM. : The functional role of Langerhans cells. *J Invest Dermatol*, 74 : 315-8, 1980.
 54. Taguchi, T., Ohara, I, Kasa, M. and Inaba, H. : "Clinical application of argon laser irradiation for the patients with disturbed peripheral circulation", *J. of Japan Soci. of Laser Med.*, 1 : 181-184, 1984.
 55. Waish LJ, Seymour GJ, Powell RN. : Human gingival Langerhans cells stimulate allogeneic lymphocytes : requirement for MHC Class II antigens, *J. Periodontol*, 61 : 328-3, 1990.
 56. Walsh LJ, Seymour GJ, Powell RN. : Differential expression of Class II (DR and DQ) antigens by human gingival Langerhans cells and Keratinocytes in vitro. *J. Oral Pathol*, 16 : 27-30, 1987.
 57. Wolff K. : The Langerhans cell. *Curr Probl Dermatol*, 4 : 79-145, 1972.
 58. Wood GS, Warner NL, Warnke RA. : Leu3/T4 antibodies react with cells of monocyte/macrophage and Langerhans lineage. *J Immunol*, 131 : 212-6, 1983.

Explanation of microphotograph

- Fig. 1. S-100 positive dendritic intraepithelial cells(Langerhans cells) counter stained with hematoxylin, 100X.
- Fig. 2. Experimental control group, S-100 positive cells(Langerhans cell) counterstained with hematoxylin, 400X.
- Fig. 3. Lased 47.5Hz 24hrs group, S-100 positive cell(Langerhans cell) counter stained with hematoxylin, 100X.
- Fig. 4. Lased 47.5Hz 48hrs group, S-100 positive cell(Langerhans cell) counter stained with hematoxylin, 100X.
- Fig. 5. Lased 190Hz, 72hrs group, S-100 positive cell(Langerhans cell) counter stained with hematoxylin, 400X.
- Fig. 6. Lased 780Hz, 72hrs group, S-100 positive cell(Langerhans cell) counter stained with hematoxylin, 400X.

사진부도

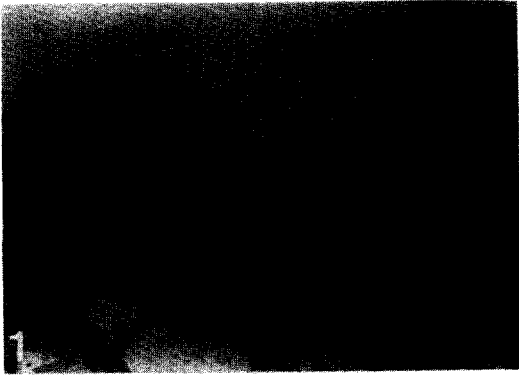


Fig. 1



Fig. 2

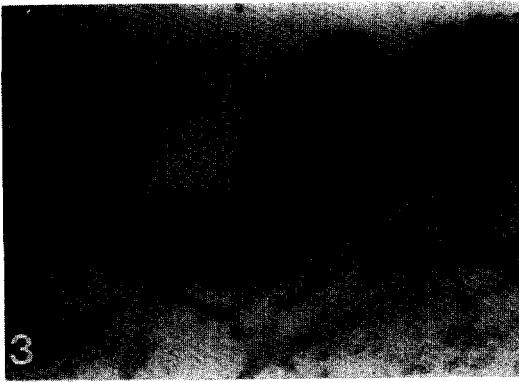


Fig. 3



Fig. 4

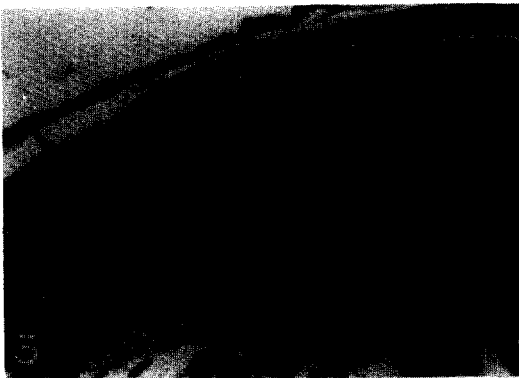


Fig. 5



Fig. 6