저출력레이저조사와 염증성 자극물질이 치은섬유아세포의 유전자 발현에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

전북대학교 치과대학 구강내과학 교실

김 정 민 · 신 금 백

목 차

Ⅰ. 서 론
Ⅱ. 실험재료 및 방법
Ⅲ. 실험결과
Ⅳ. 총괄 및 고찰
Ⅴ. 결 론
참고문헌
영문초록

Ⅰ. 서 론

치과임상에 있어 구강점막창상치료에 임해야 하는 경우가 허다하다. 이에 따라 창상의 치유를 좀 더 신속하게 진행시키기 위한 수단이 다각적으로 시도되고 있다. Mester등이 He-Ne 레이저조사가 물리적인 창상의 치유를 촉진시킨다고 보고한 이래, 저출력레이저의 생체조직에 대한 다양한 생체자극효과(biostimulation effect)가 실험적으로 혹은 임상적으로 입증되었다. 저출력레이저의 이러한 창상치유촉진효과에 반하여, 저출력레이저조사에 의해 창상이나 궤양의 치유가 촉진되지 않았다는 생체실험결과가 보고된 경우도 있었으며, Clover와 Priestley는 섬유아세포와 상피세포의 세포성장, 교원질합성 및 glycosaminoglycans 분비 등에 관한 시험관내실험을 통해 저출력레이저조사가 창상치유를 촉진한다는 아무런 근거가 없다고 보고하였다. 그러나 대부분의 동물실험과 임상적 관찰에 의해 저출력레이저의 치주병소와 피부병소에 대한 창상치유촉진효과가 입증되고 있는 바, 이에 대한 세포수준의 생화학적 및 분자생물학적 차원에서의 정확한 분석이 요구되어 왔다. 이에 관한 최근의 문헌에 의하면 저출력레이저조사가 세포분열을 유도하고, 모세혈관의 밀도를 변화시키며, 교원질의 유전자 발현을 유발하고, 섬유아세포의 증식을 촉진하며, 치은섬유아세포내의 산화효소 및 RNA를 증가시키는 등 생체실험결과와 일치하는 시험관내실험결과들이 다수 보고되고 있다. 그러나 저출력레이저의 이러한 일관성있는 창상치유촉진작용에 대한 작용기전으로는 여러 가지로 추정되고 있을 뿐이며 확실한 실험적 결과는 매우 부족한 실정이다. Kubasova등은 저출력레이저조사에 의해 세포내피의 이온이동이 증진된다고 하였고, Bosatra등, Escola등, Re와 Viterbo, Chomette등 등은 저출력레이저가 cytochrome oxidase를 통해 mitochondria에 작용한다고 하였으며, Lam등, Mester, Abergel등 등은 단백질합성에 대하여 광화학적 효과를 나타낸다고 하였고, Abergel등은 저출력레이저가 RNA합성을 촉진시킨다고 하였다. 그러나 저출력레이저의 세포수준에서의 직접적인 효과는 세

포의 근원에 따라 기능상 차이가 매우 다양하였으며, 성장촉진효과와 일치하지 않았다. 또한 레이저는 전교원질(procollagen) 생산에 대하여 그 파장에 따라 서로 다른 효과를 나타냈으며, 고출력의 Nd:YAG 레이저는 교원질합성을 극적으로 저하시켰고, 저출력의 Ga-As 및 He-Ne 레이저는 교원질생산을 촉진시켰다.

한편 창상치유과정은 염증단계, 세포증식단계, 재조직화단계의 세단계를 거친다. 첫번째, 두번째 단계에서 육아조직이 형성되며, 세번째 단계에서 반흔조직이 형성된다. 염증단계에서는 대식세포, 다형핵백혈구 등의 염증세포로 부터 cytokine들이 유리되어 다양한 종류의 생물학적 활성을 나타냄으로써 염증조직 특유의 조직변화를 야기한다. 대표적인 전염증성 cytokine들(proinflammatory cytokines)로는 interleukin-1(IL-1), interleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor(TNF)와 같은 것이 있으며, 섬유아세포는 이들 cytokine들에 대한 수용체를 가지고 있어 염증성 cytokine에 대한 세포내 변화를 초래한다.

앞에서 언급된 세포수준에서의 레이저조사의 영향에 관한 시험관적 연구 보고들은 정상적인 배양세포를 이용하여 레이저조사를 시행하였던 실험결과들이었으나, 실제 창상이나 질환에 의해 손상받은 조직세포들의 경우에는 염증성 자극 및 cytokine의 영향 아래에 있는 환경적 조건을 가지고 있으므로, 앞에서 언급된 실험적 연구들에서는 생체반응과 유사한 상태를 재현시키기에 부적당하였고 사료된다. 따라서 저자는 이러한 점에 착안하여 배양된 섬유아세포에 염증성 cytokine 혹은 세포자극물질을 적용한 후 일정시간 후에 저출력레이저를 조사함으로써 실제 생체내 현상을 시험관내에서 가능한 한 유사하게 재현하고자 하였으며, 아울러 저출력레이저의 창상치유촉진작용기전을 분자생물학적 수준에서 밝히고자 섬유아세포증식과 관련이 있을 것으로 사료되는 수종의 유전자 발현에 관하여 Northern blot hybridization을 이용, 분석, 평가한 결과 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 치은섬유아세포 배양

전신적으로 건강한 성인 남자의 지치후방치은 조직을 통상의 생검법에 의해 채취하여, Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, Gibco)에 세정, 혈액을 제거한 다음, 1mm^3 이하의 크기로 잘게 절편을 만들었다. 이어 이들 조직절편을 800rpm으로 5분간 원심분리한 후 배지를 흡인, 제거한 다음, 37℃의 0.25% trypsin-1mM EDTA에서 30분간 서서히 교반하였다. 여기에 fetal bovine serum(FBS)을 최종농도 20%가 되도록 첨가한 다음, 원심분리하여 상청액을 제거하였다. 침전된 세포괴에 10% FBS, penicillin 100 units/ml, streptomycin 100 μg/ml(Sigma) 및 Fungizone 2.5 μg/ml(Gibco)가 포함된 DMEM으로 재현탁시켜 조직배양용 접시에 옮긴 다음, 37℃, 5% CO_2에서 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 배양접시로 부터 좀 더 용이하게 떨어지는 섬유아세포와 그렇지 않은 상피세포를 구분하므로써 계대가 거듭됨에 따라 점차 순수한 섬유아세포만을 선택할 수 있었으며, 본 실험에서 사용한 섬유아세포는 5-7계대 사이의 섬유아세포에 해당하였다. 한편 배양액은 3일에 1번씩 교환하였으며, 6일에 한번씩 계대를 넘겼다.

2. 저출력레이저장치

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

3. 치은섬유아세포에 대한 cytokine 자극 및 저출력레이저조사

치은섬유아세포를 어떠한 처리도 시행하지 않은 대조군(1군), 저출력레이저조사처리만을 시행한 군(2군), macrophage inflammmatory protein (MIP)-1α 자극후 저출력레이저조사처리를 시행한 군(3군), interleukin(IL)-1β 자극후 저출력레이저조사처리를 시행한 군(4군), lipopolysaccharide(LPS) 자극후 저출력레이저조사처리를 시행한 군(5군)으로 구분하여, 군당 1.5×10^7 cell을 5×10^5 cell/ml의 농도로 배양접시에 분배하였다. 세포가 완전히 배양접시에 부착된 후, 10 μM의 MIP-1α, 2ng/ml의 IL-1β(Genzyme) 혹은 1μg/ml의 LPS(E.coli 0127:B8, Sigma)가 포함된 배양액으로 교환하여 16시간 배양한 다음, 0.25% trypsin-1mM EDTA용액으로 처리하여 세포를 배양접시에서 떼어냈다. 이를 세포배양액으로 희석시켜, 800rpm으로 5분간 원심분리한 후 상청액을 제거하고, 배양액내의 phenol red에 의한 레이저흡수를 방지하기 위하여 Dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS)으로 세척한 다음 microtube로 옮겼다. 200xg로 5분간 원심분리하여 상청액을 제거한 후, 2분간 저출력레이저조사를 시행하고 세포를 배양액에 재부유한 다음, 배양접시에 옮겨 12시간 배양한 후 rubber policeman으로 수확하여 DPBS로 세척한 후 RNA 추출에 이용하였다.

4. Northern blot 분석

(1) 치은섬유아세포로 부터의 RNA 추출

RNA를 분리, 정제하기 위한 방법으로는 guanidium thiocyanate 추출방법을 사용하였고, RNA 추출에 사용된 모든 용액은 diethylpyrocarbonate (Sigma)로 처리한 증류수로 준비하였다. 섬유아세포를 DPBS로 세척한 후 10^7cell/ml의 Solution D(4M guanidium thiocyanate, 25mM sodium citrate, pH 4, 0.5% sarkosyl, 0.1M 2-mercaptoethanol)를 첨가하였다. 50μl의 2M sodium acetate, pH 4, 500μl의 phenol, 100μl의 chloroform-isoamyl alcohol 혼합물(49:1) 등을 계속적으로 첨가하여 혼합한 후 10초동안 세게 진탕하고 15분 동안 얼음에 놓아둔 후, 4℃에서 10,000xg으로 20분 동안 원심분리하였다. 수용액층을 다른 microtube에 옮긴 후 500μl의 isopropanol을 첨가하여 -20℃에서 1시간 이상 놓아둠으로써 RNA를 침전시켰다. 4℃에서 10,000xg으로 20분 동안 원심분리한 후 침전물을 300μl의 0.1 unit/μl RNAsin이 포함된 증류수에 녹이고, 20μl의 3M sodium acetate, pH 5.2와 900μl의 100% ethanol을 첨가하여 -20℃에서 하룻동안 놓아두었다. 4℃에서 10,000xg으로 15분 동안 원심분리에 의해 얻어진 RNA 침전물을 70% ethanol로 1회 세척한 후 진공 건조시켜 RNAsin 0.1 unit/μl가 포함된 증류수 20μl에 용해시켰다.

(2) RNA 전기영동 및 membrane으로의 transfer blotting

RNA에 formaldehyde, formamide, morpholinopropane sulfonic acid(MOPS)를 혼합하여 55℃에서 15분간 denature 시킨 다음, loading buffer를 혼합하여 1.4% agarose/formaldehyde gel에서 1xMOPS buffer(0.04M MOPS, pH 7.0, 50mM sodium acetate, 5mM EDTA, pH 8.0)를 사용하여 전기영동하였다. 이 gel을 증류수로 짧은 시간 동안 세척한 후 20xSSC(3M NaCl, 0.3M sodium citrate, pH 7.0)에 30분간 soaking하여 Gene screen plus membrane에 하룻 동안 transfer한 다음, membrane을 2xSSC로 세척, 공기중에 건조시켜 80℃에서 2시간 동안 구었다.

(3) Hybridization

앞에서 준비한 membrane을 sealable bag에 넣고 prehybridization 용액 (50% formamide, 10% dextran sulfate, 10% SDS, 1M NaCl)으로 42℃에서 30분 동안 반응시킨 후 Multiprime DNA labelling kit(Amersham)와 [α-^{32}P]dCTP(Amersham)를 사용하여 만든 radioactive probe를 최종 농도 hybridization 용액 ml당 4×10^5cpm되는 양을 100℃에서 5분간 denature시켰다. 이 때 salmon sperm DNA도 함께 denature시켜 hybridization solution에 첨가

하여 42℃에서 진탕하면서 16-24시간 반응시켰다. Sealable bag에 든 용액을 제거한 후, membrane을 제조회사의 설명서에 따라 세척하여 -80℃에서 X-Omat AR film(Eastman, Kodak, Rochester, NY)에 5일 동안 감광시켰다.

(4) DNA probe

Northern hybridization에 사용한 유전자 probe로는 collagen type I(ATCC No. 57322), collagen type IV(ATCC No. 61486), heat shock protein(Hsp70, ATCC No. 57494), fibroblast growth factor(ATCC No. 53335), viral oncogene *v-myc, v-fos*, interleukin-1β, β-actin 등으로서 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD)에서 구입하였다.

Ⅲ. 실험결과

치은섬유아세포의 총 세포내 RNA를 전기영동하여 ethidium bromide로 염색한후 자외선상에 나타난 RNA형상에 대한 사진촬영분석에 의하면 28S와 18S의 ribosomal RNA band가 비교적 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 1).

치은섬유아세포에서 가장 많이 생산되는 collagen type인 collagen type I에 대한 분석에 의하면 constitutive하게 mRNA가 발현되었으며(Fig. 2), 저출력레이저조사로 발현정도가 약간 증가했으나(2군) MIP-1α(3군), IL-1β(4군) 또는 LPS(5군) 자극으로 인하여 그 이상의 collagen type I mRNA발현 증가는 없었다. 그러나 collagen type IV의 mRNA는 어느 경우에서도 나타나지 않았다(Fig. 3).

세포가 강한 자극을 받으면 적응현상의 일종으로 발현되는 단백질인 heat shock protein(Hsp 70)에 대한 분석에 의하면 대조군에서는 Hsp 70 mRNA가 약하게 발현되었지만, 저출력레이저조사군(2군)에서는 현저히 증가하였다. 그러나 MIP-1α(3군), IL-1β(4군) 또는 LPS(5군) 자극으로 인한 더이상의 Hsp 70 mRNA발현 증가는 나타나지 않았다(Fig. 4).

섬유아세포의 성장촉진인자인 fibroblast growth factor(FGF)에 대한 분석에 의하면 저출력레이저조사(2군)에 의하여 mRNA가 유도발현되었으나 MIP-1α(3군), IL-1β(4군) 또는 LPS(5군) 자극으로 인한 더 이상의 mRNA발현증가는 없었다(Fig 5).

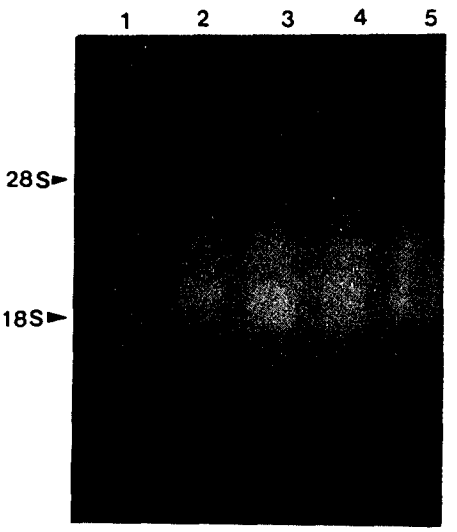

Fig. 1. Photograph of RNA electrophoresis gel
Lane 1 : control
Lane 2 : experimental group of low level laser (LLL) treament
Lane 3 : experimental group of macrophage inflammatory protein-1 α pretreatment followed by LLL treatment
Lane 4 : experimental group of interleukin-1 β pretreatment followed by LLL treatment
Lane 5 : experimental group of lipopolysaccharide pretreatment followed by LLL treatment

Oncogene산물인 *V-myc*에 대한 분석에 의하면 저출력레이저조사(2군) 후 mRNA발현이 증가되었으며, MIP-1α(3군), IL-1β(4군) 또는 LPS(5군) 자극에 의하여 더 이상의 발현 증가는 없었으나(Fig. 6), 또 다른 oncogene산물인 *V-fos*에서는 어느 경우에도 mRNA발현이 유도되지 않았다(Fig. 7).

전염증성 cytokine인 IL-1β의 mRNA발현은 저출력레이저조사(2군)에 의하여서는 별로 증가되지 못했으나, 전염증성 cytokine인 MIP-1α(3군), 특히 IL-1β(4군)의 자극에 의하여 발현정도가 매우 크게 증가되었으며, LPS(5군) 자극에 의하여도 IL-1β mRNA의 발현이 유도되었다(Fig.

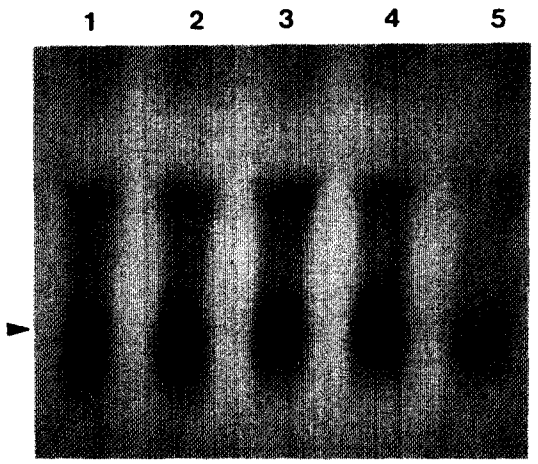

Fig. 2. Pattern of collagen type I mRNA expression

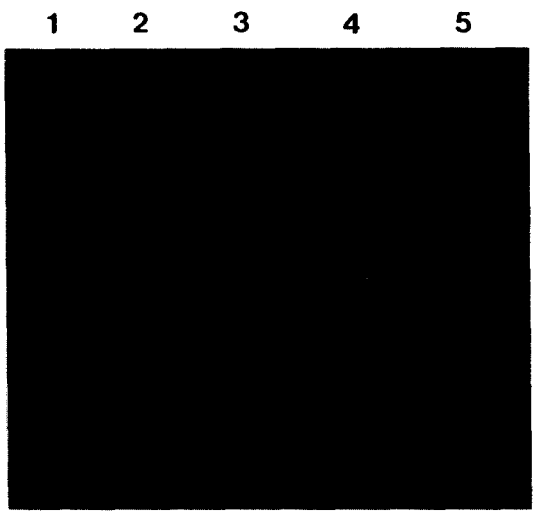

Fig. 3. Pattern of collagen type IV mRNA expression

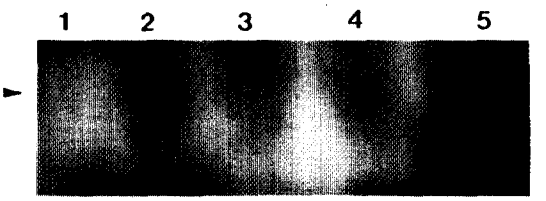

Fig. 4. Pattern of heat shock protein(Hsp 70) mRNA expression

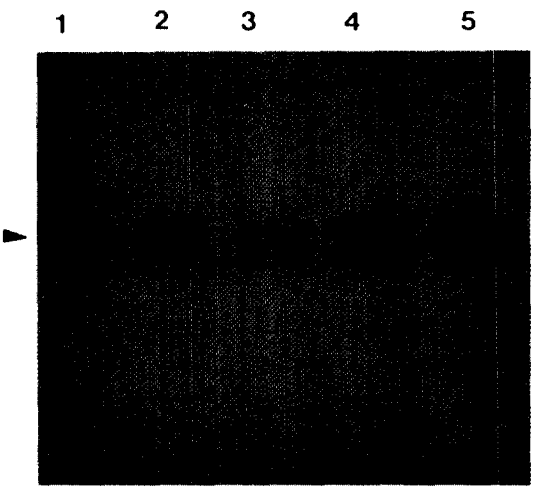

Fig. 5. Pattern of fibroblast growth factor mRNA expression

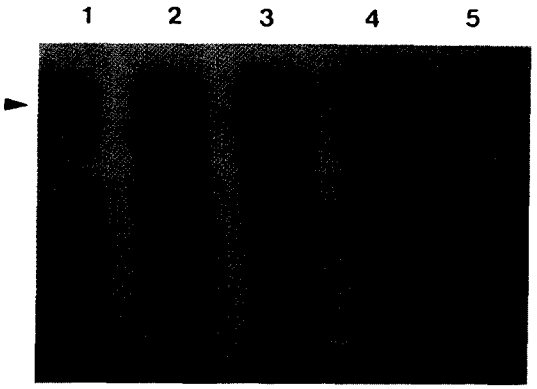

Fig. 6. Pattern of *v-myc* mRNA expression

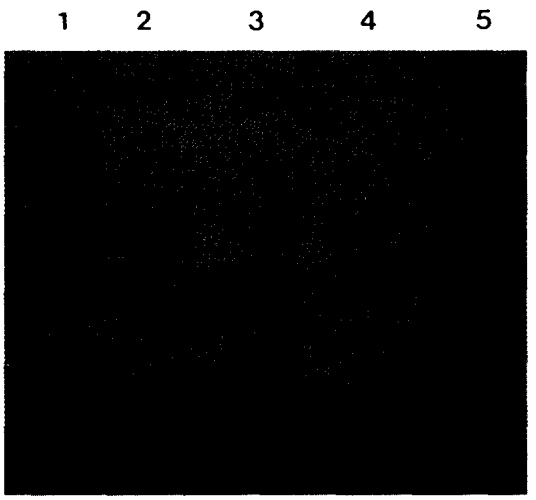

Fig. 7. Pattern of *v-fos* mRNA expression

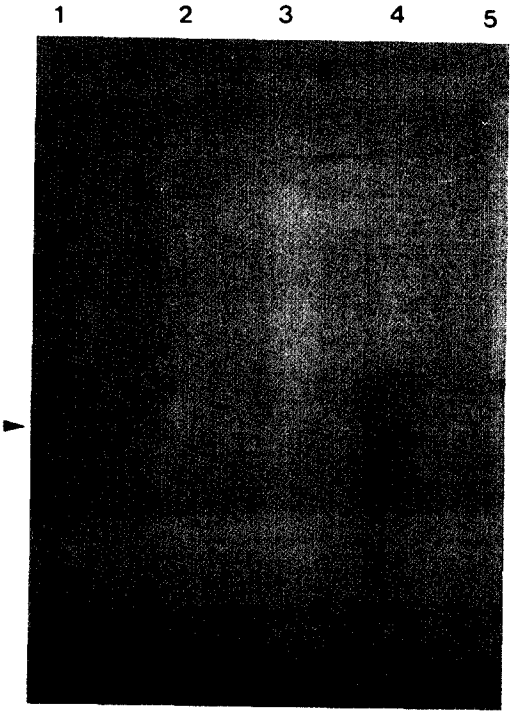

Fig. 8. Pattern of IL-1β mRNA expression

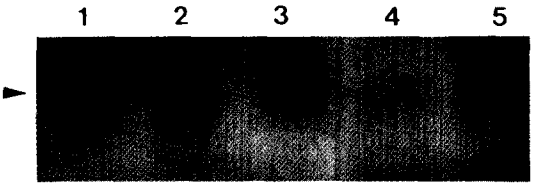

Fig. 9. Pattern of β-actin mRNA expression

8).

House keeping gene인 β-actin유전자의 mRNA발현에 대한 분석에 의하면 모든 lane에서 거의 유사한 정도의 mRNA가 관찰되었으며, 이로써 각 lane에 적용시킨 총 세포내 RNA의 양이 거의 동일함을 확인할 수 있었다.

Ⅳ. 총괄 및 고찰

일찌기 Carrel등, Howes등, Howes등, Howes등이 점막이나 피부와 같은 연조직의 창상치유에 관해 연구, 보고한 바 있으며 또한 Stearns, Schilling등, Dunphy등, Ross등, Grillo, Levenson등, Ross등, Seddon등 등이 연조직창상치유과정중 기간세포로서의 섬유아세포의 활

동에 관해 특히 교원질합성측면에서 조직병리학적 및 조직화학적으로 연구,보고한 바 있다. 그리고 연조직창상치유촉진효과에 관해서는 Mester, Mester등, Mester등, Kana등, Bosatra등, Brunner등, 한, Cho, Tominaga등, Burgudzhieva등, Burgudzhieva등 등이 연조직창상병소에 저출력레이저를 조사하여 임상적, 조직학적 측면에서 창상치유촉진효과를, 세포생물학적 측면에서 교원질합성촉진과 섬유아세포활성화를 연구, 보고한 바 있다. 따라서 저출력레이저의 이러한 연조직창상치유촉진효과에 근거하여 저출력레이저를 구강점막창상치료수단으로 응용하고자 하는 시도가 점차 확대되어가고 있는 실정이며, 그 작용기전에 관해서도 최근 김등, Pourreau-Schneider등, Skinner등 등이 연구,보고한 바 있다.

원래 레이저(LASER)란 "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation"의 머릿글자에서 유래된 합성어로서 에너지의 유도방출에 의한 광증폭현상을 말한다. 레이저는 1917년 Einstein에 의해 그 이론적 근거가 제시된 이래 많은 학자들에 의해 이론적 측면에서 연구되어져 왔으며, 실제적으로는 1960년 처음으로 Maiman에 의해 루비결정을 이용한 레이저가 개발된 이후 현재 여러종류의 레이저가 개발, 활용되고 있다.

레이저의 의학적 응용측면에서 개발초기에는 고출력레이저에 의한 임상응용이 주류였으나, 근래 Soft Laser 라고도 불리는 low level laser 즉 저출력레이저가 개발됨에 따라 새로운 응용분야가 열리고 있다. 즉 1971년 Mester등이 저출력레이저를 난치성 피부궤양의 치료에 응용한 것을 시작으로, 그 응용범위가 날로 확대되고 있으며, 더구나 1980년대에 들어서 반도체산업의 발달에 힘입어 반도체레이저가 실용화되면서 그 의학적 응용이 더욱 활발히 추진되고 있는 추세이다. 한편, 치과영역에서도 구강악안면부위질환의 치료효과촉진차원에서 소염, 진통 및 창상치유촉진 등의 목적으로 저출력레이저가 응용되고 있으나, 그 효과면이나 작용기전면에 관해서는 아직 논란의 여지가 많은 실정이다. 바로 이러한 논란에 있어 특히 창상치유촉진효과를 입증해줄 만 한 분자생물학적 수준의 자료를 얻고자 함이 본 연구의 목적이기도 하다. 즉 구강점막창상치유과정중 기간세포로서의 섬유아세포에 대한 저출력레이저의 작용기전을 섬유아세포의 성장조절유전자발현 측면에서 실험적으로 규명하고자 하였다. 단 창상에 따른 생체반응 조건을 고려하여 창상관련 염증성 자극물질의 영향을 동시에 평가하였다.

Lymphokine에 관해서는 1926년 Zinsser와 Tamiya에 의해 그 활동성이 관찰된 이래 최근까지 많은 연구가 이루어 지고 있다. Cytokine은 면역계 세포에 영향을 미쳐 어떤 세포의 활동을 촉진, 또는 억제, 또는 조절하는 역할을 하는 수용성 단백질로서 임파구에서 생산되는 경우를 말하며, 임파구양세포에서 생산되는 경우에는 특별히 lymphokine이라고도 한다. 염증세포는 수 많은 종류의 cytokine을 생산해내며, 이들 물질은 염증의 여러단계에 관여한다. Cytokine중 interleukin(IL), interferon(INF), tumor necrosis factor(TNF) 등은 대식세포, T세포, B세포, 섬유아세포, 조골세포 등에서 생산된다. 특히 IL-1은 섬유아세포의 증식, 섬유아세포에 의한 collagen 합성 촉진, 골흡수, 연골파괴, synovial cell로 부터의 PGE_2나 collagenase 분비촉진 등의 작용을 한다. 그런데 창상치유과정중 염증단계에서 염증세포로 부터 cytokine들이 유리되어 다양한 종류의 생물학적 활성을 나타냄으로써 염증조직 특유의 조직변화를 야기하는 바, IL-1도 그러한 cytokine들 중 하나이며, 창상치유과정중 기간세포로서의 섬유아세포는 이에 대한 수용체를 가지고 있어 그에 따른 세포내변화가 초래될 것으로 추정된다. 따라서 본 연구에서는 이러한 점을 활용하여 섬유아세포의 성장조절에 미치는 저출력레이저와 cytokine의 영향을 유전자 수준에서 규명하고자 하였다.

대개 유핵세포로 구성되어 있는 다세포생물은 적절한 유전자가 적절한 시기에 활성화되도록 유전자발현을 조절한다. 유핵세포의 유전자 발현조절은 세포로 하여금 유전자 발현을 조절하도록 지시하는 어떤 신호에 따라 mRNA대사의 어느 수준에서 어떤 기전의 세포반응이 일어남으로써 이루어진다. Epidermal growth fac-

tor(EGF), interleukin(IL), interferon(INF), plateler-derived growth factor(PDGF)등은 유핵세포 유전자를 활성화하는 신호중 단백질인자(protein factor)에 속하며, 이들은 대부분 분자량 1~40 KD 정도의 polypeptied이다. 한편 mRNA 대사를 조절하는 수준은 전사(transcripsion), RNA전사체의 처리단계, mRNA의 안정화단계, mRNA의 단백질 번역(translation)단계 및 mRNA의 운반단계로 구분된다. 유핵세포의 유전자발현조절기전에 관한 연구에 의하면 전사단계 특히 개시단계에 site-specific DNA binding protein과 chromosomal topology의 변화가 유전자발현조절에 관여하는 것으로 알려져 있다. 이 경우 site-specific DNA binding protein에 대한 특이성은 세포가 가지고 있는 수용체에 따라 결정된다.

정상세포의 증식은 polypeptide growth factor를 포함한 여러 세포외인자들에 의하여 조절된다. 이들 인자들은 특이한 세포표면수용체와 작용하여 세포내로 신호를 전달함으로써 DNA합성과 세포분열을 일으킨다. 그러나 악성종양세포의 경우에는 세포증식이 조절되지 않는다. 세포배양시 혈청을 첨가함으로써 세포증식이 촉진된다는 사실은 혈청내 성장인자가 세포증식에 관여한다는 사실을 입증한다. 그러나 종양세포로 전환하게 되면 혈청의 필요성이 감소하게 된다.

최근 종양형성유전자(oncogene)가 악성종양화에 관여함과 종양형성유전자의 일종인 retroviral oncogene이 악성종양세포에서가 아닌 정상세포에서도 발견됨에 따라 세포의 성장조절기전상 특히 성장인자와 종양형성유전자 사이의 복잡한 관계에 관한 연구가 진행되어 왔다. 세포증식을 위한 특별한 성장인자의 요구도가 감소하게 되는 이유에 대한 설명으로서는 성장인자의 자가유래합성(autologous synthesis, autocrine growth) 또는 변형된 성장인자의 수용체 합성 또는 second messenger cascades의 여러 단계에서의 직접적인 활성화 등을 들 수 있다.

세포의 성장조절과정에서 종양형성단백질(oncogenic protein)이 성장촉진을 일으키는 경우로서는 첫째, 종양형성유전자산물 자체가 성장인자와 유사한 작용을 나타내는 경우, 둘째, 종양형성유전자산물이 성장인자수용체와 기능상 유사한 경우, 셋째, 종양형성단백질이 세포내 growth control pathway에 직접 작용함으로써 외적인 성장자극인자를 필요로 하지 않는 경우 등을 들 수 있다.

위의 각 경우에 해당되는 종양형성유전자산물 중 첫번째에 해당되는 경우 즉, 성장인자와 구조와 기능이 유사한 것으로 simian sarcoma virus(SSV)의 *v-sis* oncogene을 들 수 있다. Platelet-derived growth factor (PDGF)와 *v-sis*의 염기서열사이의 상동성(homology)이 발견된 이래, 성장인자와 악성종양 사이의 관계에 관하여 많은 이해를 얻게 되었다. 현재까지는 *v-sis* 산물이 유일하게 알려진 oncogene-encoded growth factor이지만, epidermal growth factor(EGF), transforming growth factor α (TGFα), insulin-like growth factor-1과 -2(IGF-1, -2) 등이 또다른 oncogene-encoded growth factor의 예가 될지도 모른다는 실험적 증거들이 보고되고 있다. 섬유아세포의 중요 성장촉진인자인 fibroblast growth factor(FGF)는 현재로서는 oncogene-encoded growth factor라고 알려지지는 않았지만, 본 실험결과에 의하면 저출력레이저조사에 의하여 FGF 유전자발현이 유도됨이 관찰됨으로써, growth factor 자신이 동일 growth factor 분비를 촉진하는 positive feedback현상과 함께, growth factor가 분비한 또는 주위의 세포에 다시 작용하는 이른바 autocrine및 paracrine작용의 예를 볼 수 있었다.

종양형성유전자와 세포성장조절 사이의 관계에 관한 두번째 예는 EGF 수용체의 구조에 관한 연구에서 발견되었다. 사람의 EGF 수용체의 부분적 구조서열은 avian erythroblastosis virus (AEV)의 v-erb-B oncogene과 거의 완벽하게 일치하였다. 나중에 A431 cell line에서 EGF 수용체 cDNA가 cloning됨으로써 이러한 90% 이상의 상동성이 재확인된 후 v-erb-B gene은 EGF 수용체 gene으로부터 유래한다는 것이 거의 확실시 되었다.

세번째, 종양형성유전자산물이 postreceptor stage에서의 세포성장조절단계에 관계하는 경우

의 예로서는 아직 확실하게 알려진 것은 없으나 *yes, fgr, fps/fes, ros* 및 *abl* oncogene과 같은 src family oncogene이 protein-tyrosine kinase activity를 갖는 것으로 보아 성장인자수용체와 같은 세포내 유사분열촉진성 자극(mitogenic stimulus)을 전달하는 기능을 지니고 있는 것으로 사료된다.

또한 *myc, myb, fos gene*과 같은 종양형성유전자의 산물은 핵단백질로서 유사분열촉진성 반응에 필요한 다른 유전자들의 발현을 조절할 것으로 생각되며, 휴식기 섬유아세포에 PDGF를 처리하면 이들 종양형성유전자들이 매우 빨리 유도되는 바, 이것은 이에 대한 중요한 증거중 하나이다. 그외에도 Muller등, Mitchell등은 여러 cell types에서 분화과정과 관련하여 정상 v-fos 단백질이 발현된다고 하였고, Muller등은 성장인자들이 다른 종양형성유전자가 활성화되기에 앞서 *v-fos* 발현을 유도한다고 보고하였다. 또한 골수 단핵구 분화(myelomonocytic differentiation)와 대식세포증식 동안에도 *v-fos* 발현이 유도되며, 고농도의 *v-fos* 단백질은 배양된 섬유아세포의 암세포로의 전환을 유발할 수 있다고 하였다. 한편 *v-myc* 단백질은 다양한 인간세포에 존재하며, 따라서 세포증식의 조절이 이 종양형성유전자의 중요한 생리학적 역할 때문일 것으로 생각되었다. *v-myc* 단백질은 정상 섬유아세포에서의 낮은 수준으로부터 종양세포주에서의 10배 이상 높은 수준까지 매우 다양한 양적 차이를 보이며, v-myc mRNA는 매우 불안정하여 반감기가 10-15분 밖에 안되므로, 아마도 v-myc 발현의 조절은 mRNA의 분해에 영향을 미치는 후전사사상(posttranscriptional event)에 의해 조절되는 것으로 생각된다. 본 실험결과에 의하면 *v-myc*발현이 증가되었던 바, 이로 미루어 보아 저출력레이저조사에 의한 창상치유촉진 혹은 세포증식 효과에 *v-myc*단백질 증가가 어느정도는 기여할 것으로 추측되었다. 또한 *v-myc*가 hsp70과 같은 heat shock gene을 활성화시켜 생리학적 적응(adaptation)현상에도 관여하는 것으로 여겨져왔다. 본 실험결과에서도 저출력레이저조사에 의하여 hsp70발현이 유도되는 것으로 관찰되어 위에 언급된 내용과 일치하였으나 이것이 발현에의한 간접효과인지, 아니면 저출력레이저조사에의한 직접적인 유전자발현유도인지 확인할 수는 없었다.

점막이나 피부와 같은 연조직의 창상치유에 있어 결체조직의 역할은 매우 크다. 결체조직은 세포간질(extracellular matrix)과 그 속에 존재하는 섬유아세포, 대식세포, 비만세포 등의 세포로 구성되어 있다. 세포간질은 그속에 존재하는 세포,대부분의 결체조직에서는 주로 섬유아세포에서 분비된 고분자물질의 조립에 의한 복잡한 그물구조로 이루어 진다.세포간질을 이루는 고분자물질은 크게 다당류인 glycosaminoglycan과 섬유성 단백질인 collagen, elastin, fibronectin, laminin으로 분류된다. Collagen의 경우 3개의 α chain이 꼬여서 collagen molecule를 형성하며, 이 α chain 은 각기 다른 유전자에 의해서 발현된다. 이들 α chain의 조합형태는 조직에 따라 달라지며, 현재 type Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ가 가장 잘 밝혀져 있다. 이중 type Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ collagen의 경우 세포내에서 precollagen molecule이 합성되어 세가닥으로 꼬인후 collagen molecule형태로 세포간질공간(extracellular space)에 분비된다. 이 collagen molecule의 N-terminal과 C-terminal쪽에 꼬이지 않은 부분은 collagenase에 의해 분해되어 collagen 또는 tropocollagen molecule 이 되며, 이들이 모여 collagen fibril 로 조립되고, 이들 fibril들이 모여 다시 collagen fiber로 조립된다. 한편 type Ⅳ collagen의 경우에는 precollagen molecule자체가 얇은 판상그물구조로 조립된다. Type Ⅳ collagen은 주로 세포간질중 상피세포층 밑에 존재하는 얇은 판상의 basal lamina를 구성하며, basal lamina 의 또 다른 구성분으로서의 부착성 단백질인 laminin과 결합한다. 세포간질은 조직을 안정시키는 물리적 구조물로서의 기능 이외에 세포간질과 접촉하고 있는 세포의 발달, 이동, 증식, 형태 및 대사등에 영향을 미치며, 세포간질내 혹종의 단백질은 조직화의 개시와 유지, 그리고 창상치유에 있어 중요한 역할을 한다.

Mester(1983)는 저출력레이저조사시에 따른 radioactive glydine과 proline을 이용한 실험에서 저출력레이저의 교원질합성 증진효과를 관찰

함으로써 창상치유촉진효과를 증명한 바 있다.

Collagen type I은 치은섬유아세포에서 가장 다량으로 생산되는 collagen type으로서, 본 실험결과에서도 constitutive하게 유전자발현이 되었으며, 저출력레이저조사로 인하여 이것이 증가된 양상을 보여 Mester(1983)의 연구 보고와 일치하는 양상을 보였다. 그러나 collagen type IV는 정상상태의 치은섬유아세포에서 거의 발현이 안되는것으로 알려져 있으며, 본 실험에서도 mRNA발현을 관찰할 수 없었다.

저출력레이저는 target조직에 DNA공명(resonance)을 일으키며, 또는 RNA합성을 증가시키며, 또는 단백질합성에 광화학적 효과를 유발함으로써 다양한 종류의 유전자발현유도를 통하여 다양한 생불학적 효과를 나타내는 것으로 생각되어져 왔다. 알려진 생물학적 활성으로는 세포성장촉진, 면역세포기능억제 및 함염효과, 창상치유촉진을 들 수 있다. 본 실험애서는 이 가운데 세포성장촉진 및 창상치유와 관련이 예상되는 몇몇 유전자의 발현이 저출력레이저조사에 의하여 증가되는 것을 관찰할 수 있었다.

그러나 전염증성 cytokine및 LPS를 세포에 전처리하여 생체내에서의 저출력레이저조사시와 유사한 환경을 재현하여 본 결과, 유전자발현정도는 IL-1β를 제외하고는 별 차이가 없는 것으로 관찰되었던 바, 이로 미루어 보아, 저출력레이저의 생물학적 활성은 염증상태와 정상상태의 구분이 없이 일정할 것으로 생각되나 이에 관해서는 지속적인 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

저출력 레이저조사에 의한 창상치유촉진 및 소염작용의 기전을 세포수준에서 밝히고자, 세포성장및 자극반응과 관계가 있을 것으로 여겨지는 인자들의 DNA probe 를 사용하여, 저출력레이저조사처리된 배양 치은섬유아세포의 mRNA 발현정도를 Northern blot 분석을 통해 관찰, 평가하였다. 시험관내조건을 생체에서의 창상치유과정 및 염증과정과 유사하게 조성하기 위하여 저출력레이저(830nm, 15nm, 2min)조사 전에 전염증성(proinflammatory) cytokine인 macrophage inflammatory protein-1α(MIP-1α), interleukin-1β(IL-1β) 또는 endotoxin인 lipopolysaccharide(LPS)로 전처리 하였으며, 저출력레이저조사 12시간 후 각각의 세포를 수확하여 RNA hybridization한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 치은섬유아세포의 collagen type I 유전자발현이 저출력레이저조사에 의하여 약간 증가되었으나 MIP-1α, IL-1β 및 LPS 자극에 의하여 그 발현정도가 크게 변하지 않았으며, collagen type IV 유전자 발현은 대조군을 비롯한 어느 군에서도 유도되지 않았다.
2. Heat shock protein(Hsp 70)유전자 발현정도가 저출력레이저조사에 의하여 증가되었으나 MIP-1α, IL-1β 및 LPS 자극에 의하여 더 이상의 변화는 없었다.
3. Fibroblast growth factor(FGF) 유전자 발현정도가 저출력레이저조사에 의하여 증가되었으나, MIP-1α, IL-1β 및 LPS 자극에 의하여 더 이상의 증가가 일어나지 않았다.
4. Oncogene *v-myc* 유전자 발현이 저출력레이저조사에 의하여 약간 증가되었으나 MIP-1α, IL-1β 및 LPS 자극에 의하여 더 이상의 증가는 없었으며, *v-fos* 유전자 발현은 어느 경우에서도 관찰되지 않았다.
5. IL-1β 유전자는 저출력레이저조사에 의하여 매우 미약하게 발현이 유도되었으며, MIP-1α 및 LPS 자극에 의하여는 좀 더 증가되었고 IL-1β 자극에 의하여는 매우 현저한 증가현상을 보였다.

참 고 문 헌

1. Abergel, R.P., Lam, T.S. and Meeker, C.A. et al : Biostimulation of procollagen production by low energy lasers in human skin fibroblast culture, Cli. Res., 32 : 567, 1984.
2. Abergel, 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.
3. Adrian, J.C., Bernier, J.L. and Sprague, W.G. : Laser and the dental pulp, J.Am.Dent. Assoc., 83 : 113,1971.
4. Benedicenti, A. : Biostimulazione con laser : Ipoton refuardante ime ccanismi che presiodons alla sua zione terapeutica, Parodontol. Stomatol. (Nuova) 3 : 39, 1979.
5. Benedicenti, A. : La possibilita della laserterapia nella cura nevralgia del trigemino, Parodontol. Stomatol. (Nuova), 3 : 138, 1979.
6. 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.
7. Braunwald, E., Isselbacher, K.J., Petersdorf, R.G., Wilsen, 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.
8. 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.
9. Burger, M.M. : Proteolytic enzymes initiating cell division and escape from contact inhibition and growth, Nature, 227 : 170, 1970.
10. Burns, F.J. and Tannock, I.F. : On the existence of a Go-phase in the cell cycle, Cell Tissue Kinet., 3 : 321, 1970.
11. Carrel, A. and Hartmann, A. : Cicatrization of wounds I. The relation between the size of a wound and the rate of its cicatrization, J. Exp. Med., 24 : 429, 1916.
12. Carroll, J.M. : The story of the laser, E.P. Dutton & Co., Inc., New work, 1970.
13. Chavrier, C., Hartmann, D., Couble and M.L. et al : Laser a infrarouge et cicatrisation conjonctive en chirurgie parodontale, J. Parod., 5 : 209, 1986.
14. Cho,B.Y.and Cho,J.O. : Experimental study on the effect of the laser irradiation in treating oral soft wound,J.Dent.Res., 65(4) : 600, 1986.
15. Chomette, G., Auriol, R.M. and Zeitoun, R. et al : Effet du soft laser sur le tissu conjonctif gingival, I. Effet sur les fibroblastes, Etude histoenzymologique et de microscopie electronique, J. Biol. Buccale., 15 : 45, 1987.
16. Cole, A.S and Eastoe, J.E. : Biochemistry and Oral Biology, Toppan Co., Tokyo, 1977.
17. Danon D., Kowatch M.A. and Roth G.S. : Promotion of wound repair in old mice by local injection of macrophages, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 86(6)2018, 1989.
18. Darnell, Lodish and Baltimore : Moleculor Cell Biology, 1986.
19. Dunphy, J.E. and Udupa, K.V. : Chemical and histochemical sequences in the normal healing of wounds, New Eng. J.Med., 253 : 847, 1955.
20. Goldman, L. : Laser action at the cellular level, J.Am. Med. Assoc., 198 : 641, 1966.
21. Grillo, H.C. : Origin of fibroblasts in wound healing-An auto-radiographic study of inhibition of cellular proliferation by loca X-irradiation, Annu. Surg., 157 : 453,1963.
22. Kert,J.and Rose,L. : Clinical laser therapy-Low level laser therapy, Scandinavian Medical Laser Technology, Copenhagen, 1989.
23. Lazzari, E.P. : Dental biochemistry, Lea & Febriger Co., Philadelphia, 1968.
24. 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.
25. Lowenberg, B.F., Aubin, J.E. and Deporter, D.A. and et al. : Attachment, migration and orientation of human gingival fibroblasts to collagen-coated, surface demineralized, & untreated root sites, J.Dent.Res., 64 : 1106, 1985.
26. Maiman, T.H. : Stimulated optical radiation in ruby, Nature, 187 : 493,1960.27. Olson, J.E., Schimmerling, W. and Tobias, C.A. : Laser action spectrum of reduced excitability in nerve cells, Brain Res., 204 : 436, 1981.
28. Seddon, S.V., Walder, D.M., Garrahan, N., Williams, D. and Williams E.D. : The colonality of normal lingual epithelium, J.Dent.Res., 69(4) : 978,0 1990.
29. 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 type I and III collagen, Arch. Oral. Biol., 25 : 283, 1980.
30. Escola, R., Lu, R. and Escola, M.J. : Contribution a l'etude ultrastructurale de tissus gingivaux irradies au soft laser He-Ne, Chir. Dent. Fr., 276 : 113, 1985.
31. Fine, S., Klein, E., Nowak, W.and Scott, R.E. et al : Interaction of laser radiation with bioligic systems I. Studies on interaction with tissue, Fed. Am. Soc. Exp. Biol., 24 : 35, 1965.
32. Franquin, JC. and Coche, P. : Principes d'utilisation du laser Helium-Neon en odontologie, Quest. Odontol. Stomatol., 11 : 217, 1986.
33. 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.
34. Howes, E.L, Sooy, J.W. and Hartey, S.C. : The healing of wounds as determined by their tensile strength, J. Am. Med. Assoc., 92 : 42,1929.
35. Howes, E.L, : The rate and nature of epithelization in wounds with loss of substance, Surs. Gyn.& Obst., 76 : 738, 1943.
36. Hunter, J., Leonard, L. and Wilson, R. et al : Effects of low energy laser on wound healing in a porcine model, Laser Surg. Med., 3 : 285, 1984.
37. Junqueira, C., Carneiro, J. and Kelly, R.O. : Basic histoloy, Appleton and Lange, Connecticut, 1989.
38. Kana, J.S., Hutschenreiter, G.and Haina, D. et al : Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats, Arch. Surg., 116 : 293, 1981.
39. Kaneko M. : Quantitative studies on wound healing of the dorsal skin of rats after Nd : YAG laser irradiation with contact method, Aichi. Gakuin Daigaku Shigakkai Shi-Aichi-Gakuin Journal of Dental Science, 28(3) : 857, 1990.
40. 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.
41. Kubasova, T., Kovacs, L. and Somazy, 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.
42. Lajtha, L.G. : Differential sensitivity of the cell life cycle, J. Cell Comp. Physical., 62(suppl) : 141, 1963.
43. Lam, T.S., Abergel, R.P. and Dwyer, R.M. : Biological effects of laser : Stimulation of collagen production by low energy lasers in human fibroblast cultures, J. Am. Soc. Laser Med. Surg., 3 : 189, 1983.
44. Luomanen, M. and Virtanen, I. : Distribution of tenascin in healing incision, excision and laser wounds, Journal of Oral Pathology & Medicine, 22(1) : 41, 1993.
45. Lynch J.P 3d.,Standiford T.J., Rolfe M.W., Kunkell S.L.,and Strieter R.M. : Neutrophilic alveolitis in idiopathaic pulmonary fibrosis, The role of interleukin-8, American Review of Respiratiory Disease, 149(6) : 1400, 1988.
46. Masubuchi, K. and Dytch H.E. : Cytomorphologic, cytometric and histomorphologic observation after laser therapy for cervical lesions, Journal of Reproductive Medicine, 37(3) : 267, 1992.
47. McCaughan, J.S., Bethel, B.H., Johnson, T. et al : Effect of low-dose Argon irradiation on rate of wound closure, Lasers Surg. Med., 5 : 607, 1986.
48. Mendelsohn, M.L. : The growth fraction-A new concept applied to tumors, Science, 132 : 1496, 1960.
49. Mester, E. and Yaszagi-Nagy, E. : The effect of laser radiation on healing and collagen synthesis, Studia.Biophysica., 35 : 227, 1973.
50. Mester, E. et al. : Effect of low energy rays on wound healing, Am.J.Surg., 122 : 232, 1971.
51. Mester, E and Szende, B. : Effects du laser dans la guerison des plaies, Lyon. chir., 67 : 416, 1971.
52. Mester, E. : Clinical results of laser stimulation and experimental studies on its mechanisms of action, Minerva Med., 72 : 2195, 1981.
53. Mester, E. : L'aspect biostimulant du rauon laser, Cah. Biother., 77(suppl) : 59, 1983.

54. Mester, E., Nagylucskay and S., Tisza, S. et al : Stimulation of wound healing by means of laser rays ; Investigation of the effect on immune competent cells, Acta. Chir. Acad. Sci. Hung., 19 : 163, 1978.
55. Mester, E. : Stimulation of wound healing by means of laser rays, Clinical and electron microscopical study, Acta. chir. Acad. Sci. Hung., 14 : 347, 1973.
56. Mousques, T. : Etude en double aveugle des effets du laser Helium-Neon en chirurgie parodontale, Quest. Odontol. Stomatol., 11 : 233, 1986.
57. Pardee, A.B. : A restriction point for control of normal animal cell proliferation, Proc.Nat.Acad. Sci., 71 : 1286, 1974.
58. Porras-Reyes B.H. and Mustoe T.A. : Platelet-activating Factor ; Improvement in wound healing by a chemotactic factor, Sugery, 11(4) : 416, 1992.
59. Pourreau-Schneider, N., Soundry, M., Remusat, M., Franquin, J.C. and Martin,P.M. : Modifications of growth dynamics and ultrastructure after helium-neon laser treatment of human gingival fibroblast, Quintessence, 20 : 887, 1989.
60. Re, F. and Viterbo, S. : Amalisi delo degli effetti biologici dei soft laser, Minerva Stomatol., 34 : 357, 1985.
61. Re, F. and Vitero, S. : Indicazioni sell'uso della soft laser terapia in odontostomatologia, Minerva Stomatol., 34 : 563, 1985.
62. Ros, 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.
63. 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.
64. Rounds, D.E. and Olson, R.S. : The effect of the laser on cellular respiration, Z. Zellforsch., 87 : 193, 1968.
65. Rounds,D.E. and Olson,R.S. : The effect of intense visible light on cellular respiration, Life Sci., 6 : 359, 1967.
66. Sarret, Y., Woodley, D.T., Grigsby, K., Wynn, K. and O'Keefe E.J. : Human keratinocyte location ; The effect of selected cytokines, Journal of Investigative Dermatology, 98(1) : 12, 1992 .
67. Sauder, D.N., Kilian, P.L., McLane, J.A., Quick, T.W. and Jakubavic, H : Interleukin-1 enhances epidermal wound healing, Lymphokine Research, 9(4) : 465, 1990.
68. Schilling, J.A., Favata, B.V. and Radakovich, M. : Studies of fibroplasia in wound healing, Surg. Gyn. & Obst., 96 : 143, 1953.
69. 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.
70. Smith, R.J., Birndort, M., Gluck, G., Hammond, D. and Moore, W.D. : The effect of low-energy laser on skin-flap survival in the rat and porcine animal models, Plastic Reconstructive Surgery, 39(2) 306, 1992.
71. Stearn, M.L : Studies on the development of connective tissue in transparent chambers in the rabbit's ear, Am. J. Anat., 66 : 133, 1940.
72. 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.
73. 森岡俊夫, 田龍祥子 : し-サ"の 齒科應用の歷史, し-サ"の 齒科への 臨 床應用と その基礎, クインテッセンス出版株式會社, 東京, 1988.
74. 김기석, 김생곤 : 치은섬유아세포(gingival fibroblast)에 대한 저출력 레이저광의 효과에 관한 실험적 연구, 대한구강내과학회지, 12(1) : 17, 1987.
75. 김덕원 : 의료용 레이저, 한국광학회지, 1 : 107, 1990.
76. 김일호 : 백서의 실험적 육아조직에서 Fibronectin의 분포에 관한 면역조직화학적 연구, 치과연구, 32(2) : 67, 1992.
77. 서울대학교 의과대학 : 세포생물학, 제2판, 서울대학교 출판부, 서울, 1991.
78. 송강철 : 응용레이저가이드 실예와 기초, 기전연구사, 서울, 1985.
79. 안낙현, 신금백 : 저출력레이저가 성인의 치은섬유아세포의 성장양상과 미세구조에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 대한구강내과학회지, 17(2) : 129, 1992.

80. 오 명, 강문호 : 레이저의 응용, 청문각, 서울, 1987.
81. 정현주 : 치주조직재생 유도물질의 연구현황, 대한치주연구소주최 제2회 산학학술심포지움, 1992.
82. 한응렬 : 레이저조사가 구강연조직 창상치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 조선대학교, 1985.

ABSTRACT

AN EXPERIMENTAL STUDY ON THE EFFECT OF LOW LEVEL LASER AND SOME CYTOKINES ON GENE EXPRESSION OF HUMAN GINGIVAL FIBROBLASTS

Jung-Min Kim, D.D.S., M.S.D., **Keum-Back Shin**, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Oral Medicine, College of Dentistry, Chonbuk National University

Gingival fibroblasts were cultured and subjected to the test of Northern blot analysis for the demonstration of various mRNA expression in response to the low level laser treatment. For duplication of in vivo. wound healing process, fibroblasts were pretreated with proinflammatory cytokine interleukin-1β(IL-1β) or mitogenic substance phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA) prior to laser irradiation.

The results were as follows :

1. By the laser irradiation, the gene expression of collagen type I was markedly increased in gingival fibroblasts, especially in the case of PMA pretreatment. The gene expression of collagen typ IV, however, was not only affected by laser irradiation but also by chemical cell stimulation.
2. Oncogene v-myc expression was affected by both laser irradiation and IL-1β or PMA stimulation. But v-fos gene expression was not detected in any case of this experimental system.
3. Heat shock gene(Hsp 70) was expressed constitutively, but slightly increased by laser irradiation.
4. mRNA of fibroblast growth factor(FGF) was induced by both laser irradiation and IL-1β or PMA treatment.