

# 저출력레이저조사가 배양치은섬유아 세포의 actin filaments 발현에 미치는 영향에 관한 면역조직화학적 연구

김형성 · 김천석 · 김형수 · 김현섭 · 김병욱 · 한경운

조선대학교 치과대학 치주과학교실

## I. 서론

최근 치과임상에 있어 창상부위의 생물학적 과정을 촉진시킨다고 알려져 있는 He-Ne 레이저 혹은 GaAs 레이저와 같은 저출력 레이저를 조사하여 창상 치유를 촉진시키기 위한 방법이 대두되고 있다<sup>1, 2, 3)</sup>.

1969년 Mester 등이 루비 레이저를 이용하여 백서의 피부에서 치유 촉진을 보고한 이래, Kana 등(1981)<sup>3)</sup>, Palmieri(1985)<sup>4)</sup>, 그리고 Dyson 등(1986)<sup>2)</sup>은 저출력레이저를 이용하여 창상치유효과에 대해 보고하였고, 김 등(1985)<sup>5)</sup>은 반도체 레이저를 이용하여 배양된 치은섬유아세포에 관한 실험적 연구를 보고하였다<sup>5-8, 12)</sup>.

근섬유아세포(myofibroblast)는 활동적으로 수축하는 육아조직과 비대성 반흔조직<sup>9)</sup>, 유방암 세포의 배양등에서 우세하게 출현된다고 보고되었는데<sup>10, 11)</sup>, 이런 근섬유아세포에 대한 초미세구조와 면역조직화학적조건에서 섬유아세포의 특징인 과립 내형질세망과 골지체를 함유하고, 평활근의 근원섬유(myofibrils)에서 나타나는 액틴미세사(actin microfilaments)의 다발(bundle)을 보인다<sup>12~14)</sup>. 또한 이 세포는 섬유아세포와 평활근세포의 형태학적 및

생화학적 양상을 갖는 특이한 간엽세포로서 육아조직의 형성과 수축 등 창상 치유에 있어서 중요한 역할을 담당한다<sup>15)</sup>.

Gabbiani 등(1972)<sup>13)</sup>은 활동적인 육아조직 내에서 형태학적으로 분명한 세포에 대해 근섬유아세포라 명명하였으며, 이 세포의 창상 수축에 관한 기전에 대해 보고하였는데, Eddy 등(1988)<sup>9)</sup>은 근섬유아세포의 세포질내에 존재하는 액틴 다발이 항액틴항체(anti-actin antibody)에 의해 선택적으로 진하게 염색되는 면역조직화학적검사에 의해서 근섬유아세포는 평활근 세포라기보다는 특이한 비근육 형태의 세포라고 보고하였다.

근섬유아세포내 액틴세사의 분포에 대한 연구를 보면, Gabbiani 등(1973)<sup>16~18)</sup>은 액틴-미오신 항체를 이용하여 간세포나 재생중인 간, 피부창상에서 발생중인 표피세포, 육아조직 섬유아세포, 배양된 섬유아세포 그리고 평활근세포의 가장자리에서 진하게 염색되는 microfilamentous network의 존재를 보고하였으며, 근섬유아세포가 수축성의 단백질인 액틴과 미오신을 함유하고 있어 육아조직의 수축성은 근섬유아세포의 발현과 수축성에 의존함을 보고하였다. 그리고 Schurch 등(1987)<sup>19)</sup>은 액틴동위체들(actin isoforms)을 연

조직 종양의 분화와 기원에 대한 표지자로서 이용하였고, Tuskada 등(1987)<sup>20)</sup>은 인간에서 정상조직과 근육으로부터 기원한 종양의 진단을 위하여 액틴특이단클론성항체(actin-specific monoclonal antibody)를 이용하였으며, Hartman 등(1989)<sup>21)</sup>은 발육중인 쥐의 소장 표피에서 액틴동위체들의 표현을 연구하였다. 또한 Pourreau-Schnider 등(1990)<sup>14)</sup>은 He-Ne 레이저를 치은섬유아세포에 조사한 결과 근섬유아세포가 치은섬유아세포로부터 조기에 발생됨을 보고하면서 수축성질을 갖는 표현형을 조기에 유도시킴으로서 창상치유과정을 촉진시킬 수 있을 것이라고 보고했다.

따라서, 본 연구는 GaAs레이저를 배양된 치은섬유아세포에 조사한 후 섬유아세포내에서 수축과 이완의 기능을 갖는 액틴세사에 선택적으로 반응하는 gelsolin을 이용하여 치은섬유아세포의 세포질내에서 액틴세사의 배열을 면역조직화학적으로 관찰하여 창상치유 효과에 대한 저출력레이저의 효과를 형태학적으로 조사하고자한다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 치은섬유아세포 배양

치은섬유아세포는 건강한 환자의 치간치은에서 채취하여 배양되었다. 채취된 치은에 200unit/ml penicillin(Gibco, U.S.A)과 1 $\mu$ g/ml streptomycin(Gibco, U.S.A), 1 $\mu$ g/ml amphotericin-B(Gibco, U.S.A)가 첨가된 HBSS(Hank's Balanced Salt Solution, Gibco)로 3-4회 세척한 다음, 조직편을 1mm<sup>3</sup>의 크기로 세절한 후 직경 100mm의 배양접시에 10-20조각 정도로 고르게 분포시키고 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco, U.S.A)과 100 unit/ml penicillin, 100 $\mu$ g/ml streptomycin(Gi-bco, U.S.A), 0.5 $\mu$ g/ml amphotericin-B(Gibco, U.S.A)가 첨가된 DMEM(Dulbeccos's Modified Eagle Medium,

Gibco)으로 37°C, 100% 습도, 5% CO<sub>2</sub> 상태 하에서 배양하였으며, 배양액은 2일에 한번씩 교체하였다. 배양후 치은섬유아세포가 세포배양기에 충분히 자란 후 0.05% trypsin(Sigma)과 0.53mM EDTA(Sigma)를 이용하여 계대 배양하였으며 실험에는 제3계대의 치은섬유아세포를 이용하였다.

### 2. 세포수 산정

세포수를 산정하기 위하여 치은섬유아세포가 조직질편으로부터 증식되어 배양접시를 완전히 덮는 단층이 형성되면 배양접시에서 배양액을 제거하고 1×HBSS로 3번 씻어낸 다음 1×trypsin-EDTA 3ml을 넣고 37°C에서 3분동안 배양한 후 다시 배양액 3ml을 넣고 세포를 채취하였다. 이렇게 채취된 세포들을 1,000 r.p.m.에서 4분동안 원심분리한 후 배양액을 제거하고 centrifuge tube를 흔들어서 세포들을 균일하게 혼합하였다. 그리고 Pasteur pipette으로 20 $\mu$ l 채취하여 Hemocytometer에 넣고 현미경하에서 세포수를 산정한후 3×10<sup>4</sup>개/well(Fig 1) 로 대조군, 실험군으로 나누어 4-well(NUNC)에 분주하여 레이저를 조사하였다.

Fig 1. 3 passage cultured gingival fibroblasts before laser treatment(3×10<sup>4</sup>||/well).

### 3. 레이저 조사

본 실험에서 이용된 저출력레이저는 파장 904nm, 레이저조사 최대 출력 27mW의 GaAs 레이저 BIOLASER(동양메디칼, 한국)로서 실험군은 pulse wave, 1mW, position 7, 500Hz를 이용하여 1 cm높이에서 7분동안 (total radiant exposure : 0.53J/cm<sup>2</sup>) 조사한 다음 24, 36, 48시간동안, 대조군은 레이저를 조사하지 않고 배양 후 0.1M phosphate buffer로 세척 한 다음 면역조직화학적염색을 하였다.

### 4. 면역조직화학적염색

배양된 세포의 면역조직화학적 염색을 위해 0.05M phosphate buffered saline(PBS)으로 5분씩 3회 세척한 후, 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 실온에서 30분간 처리하여 내인성과산화효소활성을 억제시킨 다음 0.05M PBS에 5분씩 3회 수세하였다. 제1항체인 rabbit anti-gelsolin, hen smooth muscle polyclonal antibody(Chemicon international inc.)를 1:50으로 희석하여 실온에서 2시간 반응을 시킨 후 PBS에 5분씩 3회 세척하였고, 제2항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vectastain)를 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS로 5분씩 3회 세척하였으며, Avidin-biotin peroxidase complex(Vectastain kit)를 1:100으로 희석한 후 실온에서 1시간동안 반응시켰다. 발색제로는 0.003%의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 함유된 3-3 diaminobenzidine를 사용하여 2-5분간 반응시킨 후 Hematoxyline으로 대조 염색 후 봉입하였다.

## III. 연구결과

1. 저출력레이저를 조사하지 않은 배양된 치은섬유아세포에서는 핵이 뚜렷이 관찰되고 풍부한 세포질을 가진 구형의 치은

섬유아세포들이 다수 관찰되었으며, 가느다란 세포돌기를 나타내는 방추형의 섬유아세포들은 소수관찰되었고 세포들 사이에 다양한 공간들이 관찰되었으나, 세포질내에 항액틴항체에 진하게 염색된 세포는 거의 관찰 할 수 없었다(Fig 2, 3).

2. 저출력레이저조사 후 24시간 배양된 치은섬유아세포에서는 풍부한 세포질을 가진 구형의 치은섬유아세포들과 다양한 형태의 방추형 섬유아세포들이 다수 관찰되었으며, 대조군에 비하여 세포들이 밀집된 형태로 분포하였다. 또한 방추형의 세포들중에서 세포질내에 항액틴항체에 양성 반응을 보이는 근섬유아세포양 세포(myofibroblast like cell)를 관찰할 수 있었다(Fig 3, 4).
3. 저출력레이저조사 후 36시간 배양된 치은섬유아세포에서는 풍부한 세포질을 가진 구형의 치은섬유아세포들과 긴 세포돌기를 보이는 방추형의 섬유아세포들을 관찰할 수 있었으며, 24시간 배양후와 유사한 방추형 세포들의 세포질내에 항액틴항체에 양성 반응을 보이는 근섬유아세포양 세포를 관찰할 수 있었다(Fig 5, 6).
4. 저출력레이저조사 후 48시간 배양된 치은섬유아세포에서는 구형의 핵이 뚜렷이 관찰되고 풍부한 세포질을 가진 구형의 치은섬유아세포들이 다수 관찰되었으나, 항액틴항체에 양성 반응을 보이는 근섬유아세포양세포들은 관찰되지 않았다 (Fig 7, 8).

## IV. 총괄 및 고안

치은섬유아세포는 치아의 발육과 구조 및 지지에 필수적인 역할을 하는 결합조직세포로서 이 세포는 결합조직의 섬유를 형성하고, fibronectin, proteoglycan, glycosaminoglycan, tenascin, elastin 등의 기질물질을 생성하며<sup>22)</sup>,

또한 이 세포는 교원질이나 기타 기질 구성 요소들을 유지하고 전환시키는 주세포이며, 정상 상태에서는 최소한의 성장을 하지만, 창상치유시에는 활성화되어 교원질합성이 증가되고 육아조직형성을 증진시키며, 창상치유에 관계하고 있다<sup>1)</sup>.

레이저조사에 의한 창상치유 촉진효과에 대해서 Kana 등(1981)<sup>3)</sup>은 쥐의 피부 창상부위에 He-Ne레이저를 4 joule/cm<sup>2</sup>의 에너지 밀도로 조사하였을 때, 창상내 교원질 합성은 최대로 자극받는다고 보고하였고, Bosatra 등(1984)<sup>23)</sup>은 배양된 섬유아세포와 진피내 섬유아세포에 He-Ne레이저를 조사한 실험에서, 레이저조사된 섬유아세포는 골지체와 과립 내형질 세망이 비후와 비대를 나타내어 단백질 합성과 교원질 생성이 활성화됨을 보고했고, Abergel 등(1984)<sup>24)</sup>은 고출력레이저에 속하는 Nd:YAG 레이저는 정상적인 피부에서 그리고 배양된 섬유아세포에서 교원질 생성을 억제한 반면, He-Ne레이저, GaAs레이저와 같은 저출력레이저는 교원질 생성을 자극한다고 보고하였으며, 저출력레이저는 창상치유과정을 촉진시키기위해 사용될 수 있음을 제안하였다. 또한 이 등(1992)<sup>25)</sup>도 감염창상에 저출력레이저를 조사할 경우 세균 성장에 의한 조직손상보다 주위 정상조직의 생물학적 효과가 더 우세하여 조직치유가 일어난다고 보고하였다.

창상치유에 있어서 근섬유아세포에 관한 연구를 보면, Gabbiani 등(1972)<sup>13)</sup>은 다양한 기계적 혹은 화학적 외상에 의해 수일내에 섬유아세포들이 증가되고 8일내지 21일 사이에 근섬유아세포가 출현됨을 보고하였으며, Vandenberg 등(1984)<sup>26)</sup>은 정상적인 쥐의 진피에서의 섬유아세포에서는 미세사의 발현이 미약했으나, 창상 육아조직으로부터 배양된 섬유아세포에서는 형태학적으로 근섬유아세포와 유사한 미세사다발을 관찰하고, 손상 받지않은 쥐의 진피내 섬유아세포는 3-4일째에 발견되었으나, 창상 육아조직 생검으로부터의

쥐의 근섬유아세포는 5-6일째에 나타났다고 보고했다.

Rungger-Brandle 등(1983)<sup>15)</sup>은 액틴세사의 운명에 대해 연구하였는데, 창상치유동안 액틴세사는 중합형태로 안정화 되어있으면서 세포질내에서 수축을 유발하고 창상치유 후에는 혈장내로부터 액틴 해축 인자(depolymerizing factor)에 민감하게 반응하여 미세사가 세포의 세포질내로부터 점차적으로 사라진다고 보고하면서 이러한 현상은 육아조직의 수축이 궁극적으로는 근섬유아세포의 수축에 의존한다고 제시하였다.

Hebda 등(1993)<sup>27)</sup>은 근섬유아세포의 기원에 대한 연구에서, 이 세포의 대부분이 섬유아세포로부터 유도됨을 보고하였는데, 그 이유는 근섬유아세포의 구조적 특징이 배양된 치은섬유아세포와 비슷하기때문이며, 또한 국소적이지만 평활근 세포 혹은 혈관주위세포에서도 기원된다고 보고하였다.

본 연구는 배양된 제3계대의 치은섬유아세포에 1mW의 GaAs 레이저를 조사한 다음 면역조직화학적 염색 후 광학현미경하에서 치은섬유아세포의 형태학적변화 및 염색정도를 관찰하였다. 본 연구의 면역조직화학적검사를 위해 치은섬유아세포내 액틴미세사의 분포를 관찰하기 위하여 많은 포유동물 세포내에 존재하며 액틴세사와 결합하는 칼슘결합단백질(Ca<sup>2+</sup>-binding protein)<sup>28~30)</sup>이며 cytoplasmic multifunctional actin-binding protein인 gelsolin을 이용하였다. 동일한 방법을 이용하여 Eddy 등(1988)<sup>9)</sup>은 육아조직과 비대성 반흔조직에서 액틴다발이 진하게 염색된 근섬유아세포를 보고하였는데, 근섬유아세포내 액틴미세사 다발은 배양된 세포에서의 응력 섬유(stress fiber)와 비슷하며 근섬유아세포가 조직 수축을 위해 필요한 세포내 힘을 유발한다고 보고했다. 또한 Chaponnier 등(1989)<sup>28)</sup>도 인간의 유방암 기질내에 근섬유아세포는 gelsolin에 진하게 염색되는 반응을 보인다고

보고했다. 본 연구의 광학현미경하에서 대조군의 치은섬유아세포에서는 세포질이 풍부한 구형의 치은섬유아세포들이 다수 관찰되었으며 방추형의 섬유아세포들은 소수 관찰되었으나, 세포질내에 항액틴항체에 진하게 염색된 세포는 거의 관찰할 수 없었다. 레이저 조사 후 24시간과 36시간 동안 배양된 치은섬유아세포에서는 풍부한 세포질을 가진 구형의 치은섬유아세포들과 다양한 형태의 방추형 섬유아세포들이 다수 관찰되었으며, 방추형의 세포들중에서 세포질내에 항액틴항체에 양성 반응을 보이는 근섬유아세포양세포(myofibroblast like cell)를 관찰할 수 있었다. 반면 48시간 배양된 치은섬유아세포에서는 항액틴항체에 양성 반응을 보이는 근섬유아세포양세포들은 관찰되지 않았다. 이러한 소견은 저출력레이저 조사후 24시간 배양된 치은섬유아세포내 미세사다발은 세포의 축에 평행하게 배열되고 세포원형질의 표층에 진하게 염색된 치밀층을 보이는 근섬유아세포의 구조적 특성에 대해 보고한 Pourreau-schneider 등(1990)<sup>14)</sup>의 전자현미경 관찰 소견과 일치하였다.

최근, 창상치유를 촉진시키기 위한 다양한 시도들중의 하나로 Desmouliere 등(1993)<sup>31)</sup>은 transformig growth factor- $\beta$ 1을 육아조직내에 있는 근섬유아세포와 배양된 섬유아세포에 국소적으로 투여했을 때, 이런 세포내에서 풍부한 알파-평활근세포 액틴( $\alpha$ -smooth muscle actin)을 유도한다고 보고한 바, 레이저에 의한 성장인자와 치주창상치유에 관한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

본 연구는 배양된 치은섬유아세포에 1mW, 0.53J/cm<sup>2</sup>의 낮은 저출력레이저를 조사함으로써, 수축성의 성질을 갖는 변형된 치은섬유아세포의 표현형을 유도하여 창상치유의 촉진 과정을 확인하였는데, 향후 출력에 따른 액틴세사의 발현정도 등 창상치유에 관한 보다 폭넓은 연구가 필요하리라 사료된다.

## V. 결 론

창상치유촉진에 대한 저출력레이저의 생물학적 효과를 형태학적으로 조사하고자, 건강한 성인의 치간치은에서 치은섬유아세포를 채취, 배양하였다. 배양된 제 3계대의 치은섬유아세포에서 3×10<sup>4</sup>개/well의 세포수를 산정한 후 GaAs레이(BIOLASER, 동양메디칼, 한국)를 1mW출력으로 7분간 조사(0.53J/cm<sup>2</sup>)한 후 24, 36, 48시간 배양한 다음, rabbit anti-gelsolin, hen smooth muscle polyclonal antibody(Chemicon international inc.)로 염색하여 치은섬유아세포내 액틴세사의 분포를 광학현미경하에서 검사함으로써 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 저출력레이저를 조사하지 않은 배양된 치은섬유아세포에서는 핵이 뚜렷이 관찰되고 풍부한 세포질을 가진 구형의 치은섬유아세포들이 다수 관찰되었으며, 가느다란 세포돌기를 나타내는 방추형의 섬유아세포들은 소수관찰되었고, 세포들 사이에 다양한 공간들이 관찰되었으나, 세포질내에 항액틴항체에 진하게 염색된 세포는 거의 관찰할 수 없었다.
2. 저출력레이저조사 후 24시간 배양된 치은섬유아세포에서는 풍부한 세포질을 가진 구형의 치은섬유아세포들과 다양한 형태의 방추형 섬유아세포들이 다수 관찰되었으며, 대조군에 비하여 세포들이 밀집된 형태로 분포하였다. 또한 방추형의 세포들중에서 세포질내에 항액틴항체에 양성 반응을 보이는 근섬유아세포양세포를 관찰할 수 있었다.
3. 저출력레이저조사 후 36시간 배양된 치은섬유아세포에서는 풍부한 세포질을 가진 구형의 치은섬유아세포들과 긴 세포돌기를 보이는 방추형의 섬유아세포들을 관찰할 수 있었으며, 24시간 배양후와 유사한

방추형 세포들의 세포질내에 항액틴항체에 양성 반응을 보이는 근섬유아세포양세포를 관찰할 수 있었다.

4. 저출력레이저조사 후 48시간 배양된 치은섬유아세포에서는 구형의 핵이 뚜렷이 관찰되고 풍부한 세포질을 가진 구형의 치은섬유아세포들이 다수 관찰되었으나, 항액틴항체에 양성 반응을 보이는 근섬유아세포양세포들은 관찰되지 않았다.

이상의 실험 결과 배양된 치은섬유아세포에 저출력레이저 조사는 치은섬유아세포내에 액틴세사를 시간적으로 빠르게 발현시킴으로써 창상부위에 수축성질을 도모하여 창상치유를 촉진시킬 수 있음을 시사하였다.

### 참고문헌

1. 안낙현 · 신금백 : “저출력레이저가 성인 의 치은섬유아세포의 성자양상과 미세구조에 미치는 영향에 관한 실험적 연구”, 『대한구강내과학회지』, 17(2) : 129-149, 1992.
2. 양근영 · 한경수 · 강세숙 : “저출력레이저조사가 배양섬유아세포의 생존력에 끼치는 영향에 관한 실험적 연구”, 『대한구강내과학회지』, 18(2) : 97-106, 1993.
3. Kana, J.S. and Hutschenreiter, G. : “Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats”, Arch. Surg., 116 : 293-296, 1981.
4. Braekt, M.M.H., Alphen, F.A.M. and Maltha, J.C. : “Effect of low level laser therapy on wound healing after palatal surgery in beagle dogs”, Lasers Surg. Med., 11 : 462-470, 1991.
5. 김기석 · 김생근 : “치은 섬유아세포에 대한 저출력 레이저광의 효과에 관한 실험적 연구”, 『대한구강내과학회지』, 12(1) : 17-26, 1987.
6. 권순오 · 한경수 · 김병욱 : “저출력레이저 조사가 백서의 좌골신경 재생에 미치는 연구”, 『대한구강내과학회지』, 16 : 1-31, 1991.
7. 김정민 · 신금백 : “저출력레이저조사와 염증성 자극물질이 치은섬유아세포의 유전자 발현에 미치는 영향에 관한 실험적 연구”, 『대한구강내과학회지』, 19(2) : 57-71, 1994.
8. 임익준 · 신금백 · 최복 : “저출력레이저 조사가 섬유아세포와 면역세포의 증식 및 유전자발현에 미치는 영향”, 『대한구강내과학회지』, 20(1) : 53-65, 1995.
9. Eddy, R.J., Petro, J.A. and Tomasek, J.J. : “Evidence for the nonmuscle nature of the “Myofibroblast” of granulation tissue and hypertrophic scar. An immunofluorescence study”, Am. J. Pathol., 130 : 252-260, 1988.
10. Barsky, S.H., Green, W.R. and Liotta, L.A. : “Desmoplastic breast carcinoma as a source of human myofibroblasts”, Am. J. Pathol., 115 : 329-333, 1984.
11. Tamimi, S.O. and Ahmed, A. : “Stromal changes in invasive breast carcinoma : An ultrastructural study”, J. Pathol., 153 : 163-170, 1987.
12. Ehrlich, H.P., Grisliis, G. and Hunt, T. K. : “Evidence for the involvement of microtubules in wound contraction”, Am. J. Surg., 133 : 706-709, 1977.
13. Gabbiani, G. and Majno, G. : “Dupuytren’s contracture : Fibroblast contraction? An ultrastructural study”, Am. J. Pathol., 66 : 131-146, 1972.
14. Poureau-Schneider, N., Ahmed, A. and Martin, P.M. : “Helium-Neon laser treatment transforms fibroblasts into myofibroblasts”, Am. J. Pathol., 137 :

- 171-178, 1990.
15. Rungger-Brandle, E. and Gabbiani, G. :  
“ The role of cytoskeletal and cytocontractile elements in pathologic processes”, *Am. J. Pathol.*, 110 : 361-392, 1983.
  16. Gabbiani, G., Ryan, G.B. and Lamelin, J.P. :  
“Human smooth muscle autoantibody”, *Am. J. Pathol.*, 72 : 473-488, 1973.
  17. Majno, G. : “The story of the myofibroblasts”, *Am. J. Surg Pathol.*, 3(6) : 535-542, 1979.
  18. Majno, G., Gabbiani, G. and Statkov, P.R. :  
“Contraction of granulation tissue in vitro : similarity to smooth muscle”, *Science.*, 173 : 548-550, 1971.
  19. Schurch, W., Skalli, O., Seemayer, T.A. and Gabbiani, G. :  
“Intermediate filament proteins and actin isoforms as markers for soft tissue tumor differentiation and origin”, *Am. J. Pathol.*, 128 : 91-103, 1987.
  20. Tuskada, T., Mcnutt, M.A. and Ross, R. :  
“HHF35, a muscle actin-specific monoclonal antibody”, *Am. J. Pathol.*, 127 : 389-402, 1987.
  21. Hartman, A.L., Sawtell, N.M. and Lessard, J.L. :  
“Expression of actin isoforms in developing rat intestinal epithelium”, *J. Histochem. Cytochem.*, 37 : 1225-1233, 1989.
  22. Tencate, A.R. : “Oral histology development, structure, and function”, 2nd ed., St. Louis : The C. V. Mosby Co., 1985, p. 88.
  23. Bosatra, M., Jucci, A. and Olliaro, P. :  
“In vitro fibroblast and dermis fibroblast activation by laser irradiation at low energy”, *Dermatologi-ca.*, 168 : 157-162, 1984.
  24. Abergel, R.P., Meeker, C.A. and Uitto, J. :  
“Control of connective tissue metabolism by lasers : Recent developments and future prospects”, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 11 : 1142-1150, 1984.
  25. 이필연 · 김기석 : “백서 연조직의 감염 창상에 대한 저출력레이저조사시 치유 효과에 관한 실험적 연구”, 『대한구강내과학회지』17(2) : 109-117, 1992.
  26. Vande Berg, J.S., Rudolph, R. and Woodward, M. :  
“Comparative growth dynamics and morphology between cultured myofibroblasts from granulating wounds and dermal fibroblasts”, *Am. J. Pathol.*, 114 : 187-200, 1984.
  27. Hebda, P.A., Collins, M.A. and Tharp, M.D. :  
“Mast cell and myofibroblast in wound healing”, *Dermatologic Clinics.*, 11(4) : 685-696, 1993.
  28. Chaponnier, C. and Gabbiani, G. :  
“Gelsolin modulation in epithelial and stromal cells of mammary carcinoma”, *Am. j. Pathol.*, 134 : 597-603, 1989.
  29. Fatigati, V. and Murphy, R.A. :  
“Actin and tropomyosin variants in smooth muscles”, *J. Biol. Chem.*, 259(23) : 14383-14388, 1984.
  30. Yin, H.L., Kwiatkowski, D.J. and Mole, J.E. :  
“Structure and biosynthesis of cytoplasmic and secreted variants of gelsolin”, *J. Biol. Chem.*, 259(8) : 5271-5276, 1984.
  31. Desmouliere, A., Geinoz, A., Gabbiani, F. and Gabbiani G. :  
“Trnasforming growth factor- $\beta$ 1 induces-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts”, *J. Cell Biol.*, 122 : 103-111, 1993.

## 김형성 논문 사진 부도 설명

Fig 2 : Light micrograph of untreated control culture of gingival fibroblasts( $\times 100$ ).

Fig 3 : untreated control culture of gingival fibroblasts( $\times 200$ ).

Round shaped active fibroblasts with abundant cytoplasm and prominent nucleoli were observed.

Fig 4 : cultures of gingival fibroblasts 24 hours after laser treatment( $\times 100$ ).

Fig 5 : cultures of gingival fibroblasts 24 hours after laser treatment( $\times 200$ ).

Spindle shaped cells(arrows) were observed. The intensity of stain was seen in cytoplasm of these modified fibroblasts.

Fig 6 : cultures of gingival fibroblasts 36 hours after laser treatment( $\times 100$ ).

Fig 7 : cultures of gingival fibroblasts 36 hours after laser treatment( $\times 200$ ).

Spindle shaped cells(arrows) with long process were observed. The intensity of stain was seen in cytoplasm of these modified fibroblasts.

Fig 8 : cultures of gingival fibroblasts 48 hours after laser treatment( $\times 100$ ).

Fig 9 : cultures of gingival fibroblasts 48 hours after laser treatment( $\times 200$ ).

Stained spindle shaped cells were not observed.





**An immunohistochemical study on the effects  
of low-level laser irradiation on expression of actin filaments  
of human gingival fibroblasts in vitro**

Hyung-Sung Kim, Chun-Suk Kim, Hyung-Soo Kim,  
Hyun-Seop Kim, Byung-Ock Kim, Kyung-Yoon Han  
Department of Periodontology, School of Dentistry, Chosun University

The induction of a phenotype with preproperties may have clinical significance in the acceleration of the wound-healing process. Wound contraction involves a specialized cell known as the myofibroblast. The myofibroblasts can be identified by their intense staining of actin bundles with anti-actin antibody. Tissue-specific actin distribution is correlated with the contractile activity of the myofibroblasts and smooth muscle etc.

This study was performed to determine the expression of actin filaments in the cytoplasm of cultured human gingival fibroblasts after GaAs laser(BIOSAER, Korea) irradiation.

Human gingival fibroblasts were cultured from explants of normal interdental gingival tissue. The third-generation fibroblasts were used for immunohistochemical study.

The cultured fibroblasts were exposed  $0.53\text{joule/cm}^2$ (1mW, 7 minutes) of energy density, and then observed by immunohistochemical method using, rabbit anti $\alpha$ -actin, hen smooth muscle polyclonal antibody(Chemicon international inc.), and biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vectastain) 24-, 36-, 48-hour after laser irradiation

Following results were obtained :

1. In nonirradiated cultures, round shaped active fibroblasts with abundant cytoplasm and prominent nucleoli were observed.
2. In 24- and 36-hour cultures after laser irradiation, spindle shaped cells with long process were observed. The intensity of stain was seen in cytoplasm of these modified fibroblasts.
3. In 48-hour cultures after laser irradiation, stained spindle shape cell were not observed.

The results suggest that the effect of the gallium-arsenide laser treatment on cultured gingival fibroblasts is the rapid development of cytoplasmic actin filaments.