

# Nd:YAG 레이저와 수술칼로 절개한 흰쥐 혀점막에서의 CD44 발현

부산대학교 치과대학 구강내과학교실\* · 구강해부학교실\*\*

박 미 희\* · 박 준 상\* · 고 명 연\* · 박 봉 수\*\*

## 목 차

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

## I. 서 론

레이저(Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation)는 고도의 단색성, 일차성 및 직진성의 빛에너지를 레이저 광전달계를 통해 치료부위로 전달하는 장치이다<sup>1)</sup>. 1960년 Maiman<sup>2)</sup>이 합성루비결정을 이용하여 메이저라 불리운 최초의 레이저를 개발한 이래, 사용된 매질에 따라 고체, 액체, 기체 및 반도체레이저로 분류하며 이산화탄소, 아르곤, Nd:YAG, Er:YAG 등의 다양한 레이저가 개발되어 치의학 영역에서 이용되고 있다.

Nd:YAG 레이저는 활성 매질인 Yttrium-Aluminum-Garnet 결정체에 Neodymium 원소를 도금한 것으로 파장은 1064nm로 근적외선에 속하며 광전달계로는 대개 지름 200~320 $\mu$ m의 작은 광섬유를 이용하고 있다<sup>3,4)</sup>. 광섬유 접촉형

전달계의 말단부에서 레이저와 조직과의 상호작용의 하나인 광열작용으로 조직의 절단 및 응고가 발생하는데<sup>5)</sup> 조직에 레이저에너지가 흡수되면 조직의 온도가 상승되고 만약 충분한 에너지가 가해지면 조직의 물성분이 기화하여 결과적으로 조직이 제거된다. 특히 Nd:YAG레이저의 경우 멜라닌, 헤모글로빈 또는 기타 어두운 색소에 특이한 친화성을 가지고 있으므로 색소가 존재하는 부위에 가해질 경우 지혈이 일어난다<sup>1)</sup>. 또한 접촉형 광섬유 레이저 핸드피스는 수술칼로는 시야확보가 어려운 치열내측 및 주변에 사용될 수 있어 동시에 지혈과 외과적 정확성을 도모할 수 있으며 환자의 편안감, 살균력을 얻을 수 있다는 장점이 있어 연조직 절개 시 수술칼을 대신할 수 있는 유용한 장비이다<sup>1,3)</sup>.

손상을 받은 조직의 치유반응은 크게 염증기, 증식기 및 성숙기로 구분할 수 있는 바, 창상치유과정시 주요한 역할을 하는 세포로는 중성호성백혈구, 대식세포, 상피세포, 조섬유세포 및 혈관내피세포이며 이러한 세포들 외에도 다양한 종류의 단백질, 영양물, 화학매개체들이 지지역할을 한다. CD44는 다양한 기능을 수행하는 세포면 당단백으로서 주로 림프구, 대식세포, 상피세포 등에 존재한다. CD44의 주요한 생체내 기능은 림프구 혹은 대식세포와 혈관 내피세포간의 상호작용을 매개하며, 특히 림프구를 high endothelial venules(HEV)에 부착시켜 T-cell 활성화에도 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>6~12)</sup>. 이

물질은 세포간 부착 및 세포와 세포외기질의 부착에 관여하는 것으로 알려져 있고 상피조직에서는 동적으로 분화하고 있는 세포에서 특히 많이 발현되며 세포외기질에서 fibronectin, collagen 및 hyaluronic acid 같은 물질에 결합하는 능력이 있고 세포내 골격인 actin filaments와 세포외기질 사이에서 transmembrane signaling의 기능이 있는 것으로 알려져 있다<sup>13~16)</sup>.

1983년 Fisher 등<sup>17)</sup>은 이산화탄소레이저와 기존의 수술칼을 이용하여 beagle dog의 협점막을 절제한 후 치유과정의 조직을 관찰한 바 있고 Luomanen 등<sup>18~21)</sup>은 다수의 연구를 통해 흰쥐 혀배면 조직에 창상을 가한 후 다양한 면역조직화학법을 통해 이산화탄소레이저창상과 수술칼창상의 치유과정을 보고한 바 있다. Romanos 등<sup>22)</sup>은 흰쥐 등피부에 Nd:YAG레이저와 수술칼을 이용해 창상을 가하고 그 치유과정을 면역조직화학법으로 연구한 결과 약한 출력의 레이저를 사용한 경우 수술칼과 유사한 치유를 보인다고 하였고 White 등<sup>23)</sup>은 치주질환을 가진 환자를 대상으로 하여 Nd:YAG레이저와 수술칼로 치료한 후 예후를 연구한 바 큰 차이는 없었다고 하였다.

현재까지 Nd:YAG레이저로 구강내 점막에 창상을 주고 그 치유과정을 조직학적으로 관찰하거나 조직부착 및 분화과정에 강하게 발현되는 것으로 알려진 CD44와 같은 다기능 분자를 이용하여 레이저창상과 수술칼창상을 비교한 연구는 드물다. 본 연구는 흰쥐 혀점막에 대해 Nd:YAG 레이저와 수술칼로 창상을 가한 후 육안소견 및 CD44 항체를 이용한 면역조직화학염색소견의 차이를 관찰함으로써 그 치유과정을 비교 고찰하고자 시행되었다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

항온항습 및 10시간의 낮주기와 14시간의 밤주기가 일정하게 유지되는 적절한 조건하에서 시판용 고형사료로 사육된 건강한 200g 전후의 Sprague-Dawley계 흰쥐 34마리를 사용하였다. 레이저 기기는 파장 1064nm, 펄스 지속시간

120ms의 펄스식 Nd:YAG 레이저(SunLase Master, Sunrise Technology Inc., Sanfrancisco U.S.A., 그림 1)를, 레이저광 전달은 직경 320 $\mu$ m의 광섬유를 사용하였다<sup>4)</sup>.

### 2. 실험방법

#### 1) 창상형성

Ether로 흡입마취시킨 흰쥐를 실험대에 고정하고 혀의 성곽유두가 하악절치 절단부와 일치하도록 당긴 후 혀배면을 전, 후, 좌, 우, 총 4부위로 나누어 실험을 시행하였다. 성곽유두에서 혀끝 사이 중간지점을 경계로 전후방을 나누고 혀의 중심선에서 1mm 떨어진 지점에 우측에는 레이저로, 좌측에는 수술칼을 이용하여 길이 5mm로 절개를 시행하였다(그림 2).

레이저로 절개시 출력은 3W, 20Hz로 설정하였고 직경 320 $\mu$ m의 광섬유를 혀배면에 직각으로 가볍게 접촉하면서 초당 2.5mm의 속도로 이동하였다<sup>19)</sup>. 실험의 정밀성을 위해 매절개시마다 광섬유의 끝을 다이아몬드칼로 절단하여 새로운 광섬유 말단을 유지하였다.

수술칼은 15번을 이용하였으며 균일한 깊이를 유지하기 위해 칼날의 절단면 1mm를 제외한 나머지 부위를 자가중합레진으로 차단하였으며 매절개시마다 새로운 수술칼을 이용하였다(그림 3).

#### 2) 조직표본제작

창상을 가하지 않은 정상 흰쥐 2마리와 창상 직후, 6시간, 1일, 2일, 4일, 7일, 11일, 21일의 흰쥐 각 4마리를 ether jar에 넣어 희생시킨 후 창상부위가 포함된 혀배면 조직을 즉시 절취하였다. 절취된 조직을 육안으로 관찰한 후 즉시 4% paraformaldehyde(pH 7.2)로 실온에서 4시간동안 고정하였으며, 흐르는 물에 6시간 동안 수세한 다음, 통상적인 방법에 따라 alcohol과 xylene으로 탈수 및 투명화를 한 후 paraffin에 포매하고 5 $\mu$ m 두께의 연속절편을 만들었다. 창상부위를 확인하기 위해 연속절편에 통상의 hematoxyline-eosin 염색을 하였다.

#### 3) 면역조직화학법(Immunohistochemistry)

상기 조직절편을 xylene에서 파라핀을 제거하고 graded alcohol을 거쳐 물로 수세한 후 endogenous peroxidase를 제거하기 위해 methyl alcohol에 0.3% hydrogen peroxide를 첨가시킨 용액에서 20분간 처리한 다음, PBS(phosphate buffered saline)에서 10분간 3회 세척하고 5% normal horse serum에서 30분간 두었다. 그 후 조직절편을 세척하지 않고 압지를 이용하여 습기를 제거한 후, 1:400으로 희석된 1차항체인 mouse anti-rat CD44 antibody(Serotec.)에 4°C에서 18시간 동안 적용하였다. 그 후 PBS로 10분씩 3회 세척한 후 2차항체인 biotinylated horse anti-mouse IgG (Vector Lab.)을 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 적용하였다. 조직절편을 PBS로 10분씩 3회 수세하고 30분전에 미리 만들어 실온에 방치해 놓은 ABC(avidin-biotin horseradish peroxidase complex) 용액(A:10 µl, B:10 µl in 1 ml PBS, Vector Lab.)에 조직절편을 실온에서 1시간 동안 적용시켰다. 조직절편을 PBS로 10분씩 3회 세척한 후, DAB 용액(0.05% diaminobenzine and 0.01% hydrogen peroxide in 0.05M Tris-HCl buffer, pH 7.6)에 약 5분 동안 실온에서 발색하였다. 그 후 Tris buffer, PBS 및 증류수에서 각각 10분간 순서대로 세척한 후, Harris hematoxylin으로 대조염색을 하고 통상적인 방법에 따라 Permount(Poly-science, USA)로 봉입하였다. 대조군은 상기 실험과정 중 일차항체 적용과정을 생략하거나 ABC 용액 적용과정을 생략하였다.

#### 4) 관찰 및 사진 촬영

관찰 및 사진 촬영은 광학현미경(Olympus BX-60, Japan)을 이용하였으며 조직표본소견을 크게 창상부와 인접부로 나누어 관찰하고 이를 다시 상피조직, 고유판, 근육층으로 세분하여 분석하였다.

### III. 실험성적

#### 1. 육안소견

레이저와 수술칼을 이용하여 흰쥐 혀점막에

창상을 가한 직후, 6시간, 1일, 2일, 4일, 7일, 11일 및 21일에 실험동물을 희생시켜 혀를 절제하고 육안으로 관찰한 결과는 다음과 같다(표 1).

#### 1) 창상 직후

레이저로 절개시 변연이 다소 불규칙한 절개선을 형성하였다. 부분적인 탄화와 백색변성이 관찰되었으나 출혈은 없었다. 수술칼로는 명료한 선상의 절개가 이루어졌으나 출혈이 발생하여 절개부를 육안으로 확인하기 어려웠다.

#### 2) 창상 6시간

레이저 및 수술칼로 절개한 모든 부위에서 전반적인 조직부종이 관찰되었으며 레이저 창상부에는 탄화가 일부 잔존하였고 수술칼로 절개한 부위에는 출혈흔적을 확인할 수 있었다.

#### 3) 창상 1일

레이저와 수술칼 창상부 모두 국소적인 조직부종이 남아 있었고 부분적으로 수술칼에 의한 창상폭이 레이저군에 비해 약간 넓은 소견을 보였다.

#### 4) 창상 2일

레이저와 수술칼로 절개한 부위 모두 상피화가 진행되어 창상의 깊이가 얕아졌으며 조직의 부종은 거의 소실되었다. 수술칼로 절개한 부위 중 일부가 레이저 창상부보다 깊이 함몰되어 있었다.

#### 5) 창상 4일

레이저와 수술칼 창상 모두 길이가 감소하기 시작하였으며 창상폭이 감소하였다.

#### 6) 창상 7일

레이저와 수술칼 창상부 모두 길이가 절개 직후의 약 1/2정도로 감소하였으며, 창상의 흔적이 희미한 선상으로 관찰되었다.

#### 7) 창상 11일

레이저와 수술칼에 의한 창상부가 유두구조가 아직 형성되지 않은 작은 압흔 또는 불규칙한 점

의 형태만 남으면서 소실되었다.

8) 창상 21일

레이저와 수술칼에 의한 창상의 흔적이 소실되어 육안적으로 완전한 치유를 보이며 유두구조도 정상적인 흰쥐 허점막의 소견을 나타내었다.

2. 면역조직화학법(Immunohistochemistry)

창상을 가하지 않은 흰쥐의 정상 허배면조직과 Nd:YAG 레이저 및 수술칼로 창상을 가한 허배면조직에 mouse anti-rat CD44 antibody를 적용한 면역조직화학실험 결과는 아래와 같다.

1) 창상을 가하지 않은 정상 흰쥐 허배면 조직 상피조직의 기저세포층(basal cell layer) 및 유극세포층(spinous cell layer) 하방의 세포막에서는 강한 면역반응(positive immunoreactivity)을, 유극세포층 상방의 세포막에서는 중등도 혹은 약한 면역반응이 관찰된 반면, 과립세포층

(granular cell layer)과 각화층(keratinized layer)에서는 반응이 관찰되지 않았다. 고유판(lamina propria)과 근육층에서는 혈관내피세포와 면역계세포들에 강한 면역반응을 확인할 수 있었으나 세포외기질(extracellular matrix)과 골격근인 근육세포에서는 면역반응이 관찰되지 않았다(그림 4).

2) Nd:YAG 레이저 창상후 허배면 조직의 면역조직화학 소견(표 2,3,4)

(1) 레이저창상 직후

창상의 중심부는 부분적으로 탄화된 소견이 보였으며 상피조직부터 근육층 상부까지 깊이 약 0.5mm 정도의 고랑(crater)이 형성되었다. 고랑은 기저막(basement membrane)부위의 폭이 좁고 그 상하가 넓은 호리병 형태였다. 창상 인접부 조직의 CD44 항체를 이용한 면역반응은 정상 허배면조직과 비교하여 변화가 없었으며 주변혈관의 손상은 없었다(그림 5).

Table 1. Visual findings in healing laser wounds and scalpel incisions

days after surgery	Laser	Scalpel
0	carbonization and whitening dry and bloodless irregular incisions	bleeding sharp and straight incisions
6 hours	trace of carbonization generalized edema	trace of bleeding generalized edema
1	localized edema	localized edema
2	re-epithelization decrease in wound depth loss of edema	re-epithelization decrease in wound depth loss of edema
4	decrease in wound length decrease in wound width	decrease in wound length decrease in wound width
7	shallow linear depression	shallow linear depression
11	small depression or pit form	small depression or pit form
21	normal appearance	normal appearance

(2) 레이저창상 6시간

상피의 연속성이 상실되어 있었으며 창상 인접 상피조직의 면역반응은 정상 조직과 비교해서 변화가 없었다. 창상부 고유판과 근육층에는 CD44 면역양성세포들이 많이 차 있어 고랑형태가 소실되었으며 인접 조직에도 양성 면역반응을 보이는 세포와 세포외기질이 광범위하게 관찰되었다(그림 6).

(3) 레이저창상 1일

인접 상피세포들의 이주와 증식이 시작되었으나 창상 중심부 상피가 연결되지는 않았으며 창상부 표층으로 퇴축 탈락하는 세포들을 확인할 수 있었다. 인접 상피조직내 기저세포층과 유극

세포층 전체의 세포막에서 아주 강한 CD44 면역반응이 관찰되었다. 창상부 및 인접부의 고유판과 근육층 면역반응은 대체로 6시간군과 유사하였으나 창상중심부 근육층 세포외기질의 면역반응은 다소 증가하였다(그림 7,8).

(4) 레이저창상 2일

창상부 상피조직은 기저세포층, 유극세포층, 과립세포층 및 각화층의 4층으로 분화되어 재생이 진행되고 있었으며 상부에는 함요가 관찰되었다. 재생된 상피조직의 기저세포층과 유극세포층 전체의 세포막에서 강한 면역반응이 관찰되었으나 rete peg는 형성되지 않았다. 재생중인 상피조직 직하방 고유판에 CD44 면역양성세포가 고밀도로 응집되면서 세포외기질의 면역반응

**Table 2.** CD44 expression of the rat tongue dorsal epithelium in healing laser wounds and scalpel incisions

days after surgery	Wound sites		Adjacent sites	
	laser	scalpel	laser	scalpel
0	-	-	N	N
6 hours	-	-	N	N
1	-	-	++	++
2	++	++	++	++
4	++	++	+	++
7	++	++	N	N
11	+	+	N	N
21	N	N	N	N

Evaluation was done by scoring the relative increase semiquantitatively.

N : normal epithelium

The strong immunoreactivity of CD 44 can be found from the basal cell layer to the lower spinous cell layer.

- : The tissues were seperated due to incision.

+ : slight increase

The strong immunoreactivity of CD 44 can be found from the basal cell layer to the middle spinous cell layer.

++ : moderate increase

The strong immunoreactivity of CD 44 can be found from the basal cell layer to the entire spinous cell layer.

도 증가한 반면 근육층 세포외기질의 면역반응은 다소 감소하였다. 창상 인접부의 면역반응은 1일군과 유사하였다(그림 9).

(5) 레이저창상 4일

상피조직의 분화와 재생은 거의 완성단계에 이르고 있는 것이 관찰되었다. 재생된 상피조직의 기저세포층, 유극세포층 전체의 세포막에서 여전히 강한 면역반응이 관찰되었으며 rete peg이 형성되기 시작하였다. 상피 직하방의 고유판에 밀집되었던 면역양성세포가 분산되었으나 세포외기질의 반응은 강하게 남아 있었다. 창상부 및 인접부 근육층 세포외기질의 면역반응은 창상 후 2일군에 비해 증가되었다(그림 10,11).

(6) 레이저창상 7일

창상 중심부 상피는 기저세포층과 유극세포층 전체의 세포막에 강한 면역반응을 보였으며 인접부 상피의 면역반응은 정상으로 회복되었다. 창상부 및 인접부의 고유판 및 근육층내 면역반응이 감소하기 시작하였으며 특히 인접 근육층의 면역반응은 급격히 감소하였다(그림 12).

(7) 레이저창상 11일

창상부 상피조직의 기저세포층과 유극세포층 1/2까지의 세포막에서 강한 면역반응이 관찰되었다. 창상부 고유판 및 근육층에 직경이 큰 CD44 면역양성세포들이 산재하고 있으나 7일군

Table 3. CD44 expression of the rat tongue dorsal lamina propria in healing laser wounds and scalpel incisions

days after surgery	Wound sites				Adjacent sites			
	laser		scalpel		laser		scalpel	
	Cell*	ECM**	Cell	ECM	Cell	ECM	Cell	ECM
0	-	-	-	-	N	N	N	+
6 hours	++	++	-	-	+	+	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
4	++	+++	++	++	++	++	++	++
7	++	++	++	++	+	++	+	++
11	+	+	++	++	N	+	+	++
21	N	N	+	+	N	N	N	N

Cell\* ; immunoreactive cell

ECM\*\* ; immunoreactive extracellular matrix

Evaluation was done by scoring the relative increase semiquantitatively.

N : The distribution of CD44 in lamina propria of normal rat tongue mucosa

- : The tissues were seperated due to incision.

+ : slight increase

++ : moderate increase

+++ : strong increase

에 비해 고유판의 면역반응이 전반적으로 감소하였다(그림 13).

#### (8) 레이저창상 21일

상피, 고유판 및 근육층의 모든 조직에서 정상 허배면 조직의 면역반응과 일치하는 소견을 관찰할 수 있었다(그림 14).

### 3) 수술칼창상후 허배면 조직의 면역조직화학 소견(표 2,3,4)

#### (1) 수술칼창상 직후

상피조직으로부터 근육층 상부까지 깊이 약 0.5mm정도의 절개가 이루어졌으며 표층부터 심부까지 균일한 폭의 고랑이 형성되었다. 창상 인접부 조직의 면역반응은 정상허배면 조직과 일치하였으나 창상 변연부의 세포외기질에서 면역반응이 증가된 것이 관찰되었으며 인근 모세혈관의 파괴가 관찰되었다(그림 15).

#### (2) 수술칼창상 6시간

창상부는 상피에서 근육층 상부까지 V자 형태로 분리되어 있었으며 창상변연부 위로 퇴축 탈락하는 세포가 관찰되었다. 인접 상피조직의 면역반응은 정상과 비교해서 변화가 없었다. 레이저창상후 6시간군에 비해 인접부 고유판과 근육층에 CD44 면역양성세포의 수가 급증하였으며 세포외기질도 강한 면역반응을 보였다. 특히 창상 변연의 근육층내 세포외기질에서 아주 강한 면역반응이 관찰되었다(그림 16).

#### (3) 수술칼창상 1일

인접 상피조직의 이주 및 증식이 시작되었으나 창상부의 상피는 연결되지 않았으며 표층에 퇴축 탈락하는 세포가 관찰되었다. 재생되고 있는 인접 상피의 기저세포층 및 유극세포층 전체의 세포막에서 아주 강한 CD44 면역반응을 관찰할 수 있었다. 분리되었던 창상부 고유판과 근육층이 부착되어 인접부와 유사하게 면역양성반응 세포의 증가와 세포외기질의 면역반응 증가양상을 보였다(그림 17,18).

#### (4) 수술칼창상 2일

창상부 상피조직은 기저세포층, 유극세포층, 과립세포층 및 각화층의 4층으로 분화, 재생되고 있었으며 상부에는 함요가 관찰되었다. 재생 중

인 상피조직의 기저층과 유극층 전체의 세포막에서 강한 CD44 면역반응을 관찰할 수 있었다. 고유판과 근육층의 면역반응은 1일군과 대체로 유사하였으나 창상부 고유판의 면역세포 수와 세포외기질의 면역반응은 증가하였다. 레이저창상후 2일군과 비교해 볼 때 창상부 상피 직하방 고유판 면역양성세포의 밀집도는 다소 약하였다(그림 19).

#### (5) 수술칼창상 4일

상피조직의 재생은 거의 완성단계에 이르고 있는 것이 관찰되었으며 상피조직 상부에 깊은 함요가 관찰되었다. 상피조직의 기저세포층과 유극세포층 전체의 세포막은 강한 면역반응을 보였다. 창상후 2일군과 비교해 볼 때 창상부 고유판의 면역반응이 감소하기 시작한 반면, 근육층의 면역반응은 증가하였다. 창상부 근육층에서 레이저창상후 4일군에 비해 면역양성세포의 수가 증가한 것이 관찰되었으며 인접부에 직경이 큰 대식세포가 관찰되었다(그림 20,21).

#### (6) 수술칼창상 7일

재생된 상피조직의 기저세포층 및 유극세포층 전체의 세포막에서 강한 면역반응이 관찰되었고 인접 상피조직의 면역반응은 정상으로 회복되었다. 창상부 고유판의 면역반응은 4일군과 유사하였다. 창상부 근육층의 면역반응은 4일군에 비해 감소하였으나 레이저창상후 7일에 비해서는 증가되어 있었다(그림 22).

#### (7) 수술칼창상 11일

재생 상피조직의 기저세포층과 유극세포층 1/2의 세포막에서 강한 면역반응이 관찰되었다. 고유판과 근육층의 면역반응은 7일군과 동일하였다. 창상부 및 인접부 근육층 세포외기질의 면역반응은 레이저창상후 11일과 같았으나 그 외 조직의 세포 및 세포외기질의 면역반응은 강하였다(그림 23).

#### (8) 수술칼창상 21일

상피조직과 근육층의 면역반응은 정상 허배면 조직과 같았으나 고유판의 면역반응은 정상조직 및 레이저창상후 21일군에 비해 상대적으로 증가된 소견을 보였다(그림 24).

**Table 4.** CD44 expression of the rat tongue dorsal muscle layer in healing laser wounds and scalpel incisions

days after surgery	Wound sites				Adjacent sites			
	laser		scalpel		laser		scalpel	
	Cell*	ECM**	Cell	ECM	Cell	ECM	Cell	ECM
0	-	-	-	-	N	N	N	+
6 hours	++	++	-	-	++	++	+++	+++
1	++	+++	++	++	++	++	++	+++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	++	+++	+++	+++	++	+++	++	++
7	+	++	++	++	N	+	++	+
11	+	++	++	++	N	+	++	+
21	N	N	N	N	N	N	N	N

Cell\* ; immunoreactive cell

ECM\*\* ; immunoreactive extracellular matrix

Evaluation was done by scoring the relative increase semiquantitatively.

N : The distribution of CD44 in muscle tissues of normal rat tongue mucosa

- : The tissues were seperated due to incision.

+ : slight increase

++ : moderate increase

+++ : strong increase

#### IV. 총괄 및 고찰

치과영역에서의 레이저는 이용되는 파장에 관계없이 다양한 장점을 제공한다. 레이저는 혈관을 봉쇄하기 때문에 출혈이 없어 시야를 좋게 하여 수술시간을 단축시키며 림프관을 봉쇄하여 수술 후 종창이 최소화된다. 레이저는 구강내의 형태에 적절히 적용할 수 있으며, 출력조절과 전달 방법에 따라 조직을 기화, 응고 또는 절제할 수 있다. 또한 레이저를 사용하면 통증을 감소시킬 수 있다. 수술시간의 90% 정도는 통증이 없는데 그 이유는 아마 신경섬유가 봉쇄되기 때문인 것 같다. 레이저는 기계적 외상의 기회를 거의 주지 않으므로 반흔을 최소화하며 따라서 봉합술이

거의 필요하지 않고 세균을 감소시킬 뿐 아니라 일부 부위는 멸균되기도 하므로 균혈증의 위험이 있는 환자에게는 매우 도움이 된다. 이러한 여러 장점 때문에 수술칼과 전기수술기구를 대신해서 수술용레이저가 사용되고 있다.<sup>1,21,25)</sup>

임상에서 술자가 원하는 치료부위에 레이저를 효과적으로 적용하기 위해서는 레이저와 조직의 상호작용에 영향을 미치는 여러 변수를 이해하여야 한다. 레이저가 가지고 있는 변수로는 파장, 펄스지속시간, 펄스당 에너지 및 전달계 등이 있다. Nd:YAG 레이저의 파장은 전자스펙트럼상 1064nm로 근적외선영역에 속하며 크게 연속형과 펄스형으로 나눌 수 있다. 연속형이란 적용시간 동안 에너지량에 변화가 없는 것을 말하며,



본 연구에서 사용된 것은 최대출력이 평균출력보다 1,000배 정도 높은 스파이크와 상대적으로 긴 휴지기가 있는 펄스형 Nd:YAG 레이저이다. 펄스와 펄스 사이에 열소산 또는 냉각시간이 있으며 펄스의 빈도와 기간을 다양하게 조절하여 주위조직으로 열이 분산되는 범위를 제한하거나 다른 유형의 조직반응을 유도할 수도 있다. 치료용 레이저의 에너지 전달방식은 크게 접촉형과 비접촉형 두가지가 있는데 대부분은 광섬유전달 레이저로 사용되는 접촉형이다. 광섬유의 직경이 작을수록 에너지밀도가 높아지고 절단이 신속해지며 열이 많이 발생된다<sup>26)</sup>.

본 연구에서는 조직의 절개를 위한 레이저 조사조건을 출력 3W, 펄스수 20Hz로 설정하였다. 이는 펄스식 Nd:YAG레이저를 이용한 이전의 연구에서 약간씩 차이는 있으나 대체로 1.5W 이상에서 상피 및 결합조직의 절개가 이루어지며<sup>23,24,27)</sup> 2~4W사이, 특히 3.5W 이하를 사용하여야 주변조직의 손상이 적으며 심부조직의 제거를 위해서는 20Hz 이상을 사용하되 그 중 20Hz에서 파괴조직의 폭경이 최소가 된다고 보고하고 있다<sup>24,27)</sup>. 이를 기초로 실험에 이용된 수술칼과 유사하게 레이저의 절개 깊이를 표준화할 목적으로 사용된 레이저 제조회사에서 추천하는 출력에 따라 예비실험을 시행하여 1회의 레이저 조사로 절개될 수 있는 조직의 깊이를 측정하였던 바, 재현성 있게 절개되면서 상피부터 근육층 상부까지 조직의 치유양상을 관찰하기에 충분한 정도의 심부까지 절개되는 조건이 3W인 것으로 나타났다. White 등<sup>24)</sup>과 최 등<sup>27)</sup>도 탄화가 경미하면서 근육층까지 파괴되는 조건은 3W, 20Hz라고 보고하고 있다. 레이저 절개시 이동속도를 2.5mm/sec로 정한 것은 White 등의 연구<sup>24)</sup>를 참고로 하였다.

창상치유는 다양한 생물학적 현상이 고도로 조절되어 나타나며 여기에는 중성호성백혈구, 대식세포, 상피세포, 조섬유세포 및 혈관내피세포들과 다양한 종류의 단백질, 영양물 그리고 화학매개체(chemical mediators)를 포함한 여러 물질이 참여하는데 이들은 독립적 혹은 동시에 그 역할을 한다<sup>28,29)</sup>. 최근에는 생체내에 존재하는 다양한 세포부착분자들(cell adhesion molecules

; CAMs)이 창상치유 및 재생 시의 상피세포 또는 결합조직에서 행하는 역할과 이들의 발현양상에 대한 연구들<sup>30~42)</sup>이 진행되어 창상의 치유 과정을 보다 상세히 설명할 수 있게 되었다.

Penneys<sup>43)</sup>는 정상 피부와 염증 피부에서의 CD44 발현을 연구한 결과 염증상태의 피부상피조직에서 정상피부에 비해 CD44 발현이 증가된다는 것을 보고하였으며 박<sup>44)</sup>은 흰쥐의 치근과 치주조직 발생 시 CD44의 분포에 관한 연구에서 치주골의 발생 시 분화하는 골세포의 세포막과 핵막질 형성에 관계하는 조백악세포의 세포질 및 세포막에 강한 CD44의 발현을 보인다고 하였다. Brown 등<sup>15)</sup>의 연구와 Alho와 Underhill<sup>45)</sup>의 연구에서는 피부 상피세포의 증식과정에서 CD44가 세포막에서 당질화(glycosylation)와 core protein 사슬의 변화 시 세포막의 proteoglycans와 당단백에 관계하며 많은 상피조직에 존재하고 있다고 보고했다.

현재까지의 연구결과 CD44는 다양한 조직에서 발현되며 다양한 기능을 수행하는 응집세포막 당단백으로서 세포와 세포의 부착물질과 세포와 세포외기질의 부착물질로서 작용하며<sup>46)</sup> 생화학적이나 세포생물학적으로 교원질, fibronectin 및 hyaluronic acid와 같은 세포외기질과 세포내 골격(cytoskeleton)을 부착시켜 주는 연결 단백질의 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>13~16)</sup>. Hyaluronic acid는 태아발생, 창상치유 및 염증시에 증가하는 세포외기질내 물질이며<sup>47)</sup> fibronectin은 창상치유과정과 같은 조직개조(tissue remodelling)에 있어 아주 중요한 역할을 하는 세포외기질의 세포부착물질로서 창상치유초기에 급증하는 것으로 알려져 있다<sup>48)</sup>. 이러한 개개의 세포외기질이 창상치유동안 나타내는 변화를 살펴본 연구는 소수 있으나 CD44와 같이 다양한 조직과 세포에서 발현되는 다기능세포부착분자(multifunctional cell adhesion molecule)에 대한 연구는 없어 이에 CD44 항체를 이용해 펄스식 Nd:YAG레이저창상과 수술칼창상부의 치유과정을 비교 연구하는 것은 상피세포와 결합조직을 포함한 창상치유의 포괄적인 양상을 관찰할 수 있고 또한 일반적인 조직염색법으로 구분하기 어려웠던 조직내 미세한 반응까지 포착할 수

있다는 점에서 의미가 클 것으로 사료된다.

본 연구를 통해 육안으로 관찰한 바, 레이저 절개 시 출혈의 소견은 없었으며 이는 알려진 이전의 연구결과와 동일하였다<sup>21,23,49)</sup>. 레이저에 의한 절개선이 불규칙한 것은 수술칼로 절개시 과도한 압력으로 조직을 눌러야 하는 것과 달리, 레이저에 의한 절개는 기계적 손상이 아닌 광열작용이므로 가벼운 압력으로 접촉함에 따라 조직의 탄성에 영향을 받기 때문인 것으로 생각된다. Luomanen<sup>18)</sup>도 레이저에 의한 절개벽이 불규칙적이라는 소견을 보고한 바 있다. 비교적 고출력인 3W, 20Hz를 이용하였지만 탄화는 심하지 않았고 백색변성이 일부 보여 최 등의 보고<sup>27)</sup>와 육안소견이 동일하였으며 실험 중 압력이 강하게 적용된 부분은 탄화의 양이 상대적으로 많아진 것을 관찰할 수 있었다. 탄화층은 더 이상의 조직제거를 방해하고 과도한 열발생을 유발하므로 레이저 조사시에는 가벼운 압력으로 계속 이동하면서 절개하는 것이 중요하다 하겠다. 치유과정을 육안으로 관찰한 결과 실험군에 따라 다소의 차이는 있으나 레이저창상 및 수술칼창상 모두 조직의 외형적인 변화는 대체로 유사하였으며 두 군 모두 21일 경에 완전한 정상조직으로의 회복을 보였다.

CD44의 면역조직화학소견에 따르면, 창상을 가한 후 레이저군과 수술칼군 모두 초기에 조직분리로 인해 창상부에서는 CD44의 발현을 관찰할 수 없다가 상피, 고유판 및 근육층에서 점차 증가하여 약 2~4일에 최대가 된 후 후기에 다시 감소하여 정상으로 회복되는 양상을 보였으며 인접부에서는 창상직후 정상적인 면역반응을 보이다가 점차 증가한 후 후기에 감소하여 정상소견으로 회복되는 양상을 보여 CD44가 창상치유과정중에 일시적으로 발현이 증가되는 물질임을 알 수 있었다. 본 실험에서 레이저 및 수술칼창상 후 1일, 2일, 4일에 재생, 증식 및 분화하는 상피조직의 세포막에서 정상 허배측 조직에 비해 아주 강한 CD44의 발현을 보인 것은 증식, 분화하는 상피세포에서 세포면 당단백인 CD44가 아주 중요한 역할을 하는 물질임을 나타낸 것이라고 생각된다. 또한 흰쥐 허점막 창상치유과정 동안 고유판과 결합조직에서 급증하는 림프구와

대식세포 및 섬유모세포의 세포막에서 강한 CD44 발현을 관찰할 수 있었고 나아가 세포외기질에서도 강한 발현을 보인 것은 CD44가 창상치유에 관여하며 특히 다음과 같은 기능을 하는 것으로 추측할 수 있게 한다; 1) 혈관내에서 결체조직으로 이주해 오는 면역계세포들의 이주에 필요한 동적인 힘을 발휘시키는 기능 2) 결체조직 창상부위를 전체적으로 수축시켜 치유과정을 촉진시키는 발판의 역할 3) 결체조직 내에서 면역계세포 및 섬유모세포와 세포외 기질을 부착시키는 기능.

본 연구 결과에 따르면, 육안적으로는 레이저창상군과 수술칼창상군의 치유속도에 큰 차이가 없었던 반면, CD44항체를 이용하여 관찰한 결과로는 레이저창상군이 수술칼창상군에 비해 다소 빨리 정상으로 회복된 것으로 보였다. 이러한 결과는 두 군이 상피조직의 분화, 재생, CD44 면역반응에서는 유사하였지만 창상인접부 결합조직내 세포외기질을 제외한 그 외 모든 조직의 면역반응에서 레이저창상부의 CD44발현이 먼저 시작되었고 술후 6시간에 이미 조직의 분리소견이 소실되었다는 점에 근거하며 특히 이러한 측면은 레이저 치료가 봉합의 필요성을 감소시킨다는 기존의 이론을 뒷받침해준다<sup>1,26)</sup>. 또한 레이저창상 후 7일, 11일군이 수술칼창상 후 7일, 11일군에 비해 CD44면역양성세포들의 수와 세포외기질의 면역반응이 빨리 감소하였고 창상 21일후 레이저군은 정상조직의 CD44발현과 유사하게 회복된 반면 수술칼군의 고유판내에는 면역양성세포가 일부 남아 정상 허배면조직보다 증가된 CD44발현소견을 보였기 때문이다.

육안적으로 관찰한 표층의 창상치유에서 두 군이 차이가 없었다는 것은 상피조직의 재생과 상피조직에 국한해 살펴본 CD44의 발현에서 두 군이 서로 유사했다는 것을 뒷받침해준다. 이에 비해 심부조직인 고유판과 근육층에서 레이저군의 치유가 다소 빨랐던 이유를 추정한다면, 다소의 논란은 있지만 레이저의 광열작용에 의한 세포질내 수분기화로 단백질변성이 발생하고 이들이 응집되어 표층에 보호막을 형성함으로써 염증발생이 적다<sup>17)</sup>는 것인데, 이는 창상 후 초기인 6시간 후와 1일후 수술칼군의 창상 인접부에 다수의

급성 염증세포인 면역양성세포가 존재했던 것에 비해 레이저군의 면역양성세포는 밀집도가 다소 떨어졌던 것과 관련이 있을 수 있다. 그러나 최근에는 이 층이 괴사조직으로 작용하여 치유를 방해하므로 제거해야 한다는 견해도 있다<sup>18)</sup>. 또 다른 이유로는 기저막이 레이저절개에 대해 저항하는 힘이 강해 상대적으로 결합조직내 손상이 제한적이고 인접부의 손상이 적다는 것이다<sup>18~21)</sup>. 또한 레이저 손상은 세포와 세포의 기질이 같이 파괴되는 화상과 같은 열손상이 아니라 목표조직의 세포성분을 주로 파괴시키고 결합조직내의 기질은 건전하게 남기는 단순한 열손상이므로 조직의 치유가 방해받지 않는다<sup>18,22)</sup>는 것으로 요약해 볼 수 있다.

이전의 연구를 통해 절개조직의 치유과정을 수술칼과 레이저군으로 나누어 비교한 결과를 고찰해보면 Fisher 등<sup>17)</sup>은 이산화탄소레이저를 이용한 결과 두 군의 치유속도가 거의 유사하다고 보고한 바 있고, Luomanen 등<sup>18~21)</sup>은 두 군이 대체로 유사하나 레이저군의 치유가 수술칼군보다 다소 느리다고 하였던 바, 이는 연속형의 이산화탄소레이저를 이용하였으므로 펄스형에 비해 레이저에너지의 조직에 대한 조사지속시간이 길 뿐 아니라 평균 6W의 고출력, 2 mm/sec의 느린 이동속도로 인해 조직의 손상이 컸던 때문으로 추측된다. Romanos 등의 연구<sup>22)</sup>에서는 펄스식 Nd:YAG레이저 절개군 중 1.75W, 20Hz를 사용한 군과 수술칼절개군의 조직 치유는 유사하나 고에너지, 즉 3W, 30Hz군은 치유가 느리다고 보고한 바 있다. 이는 흰쥐의 등 피부부를 이용한 연구로서 절개깊이 4~5mm로 1회의 레이저 조사가 아닌 수회의 조사로 실험이 진행되었으므로 탄화량 증가에 따른 주위조직의 열손상이 심하여 본 연구의 결과와 다소 차이가 있었던 것으로 추정된다. White 등의 치주조직에 대한 연구<sup>22)</sup>에서는 조직의 절개 후 예후가 유사하였다고 보고하고 있다.

위와 같이 기존의 수술칼을 이용한 방법과 레이저를 이용한 구강내 연조직 절개를 비교한 연구가 몇 편 있긴 하지만 대체로 이산화탄소레이저를 이용한 것이며 같은 유형의 실험에서 서로 상이한 결과를 보여 논란이 되고 있는 부분이 많

다. 특히 최근처럼 다양한 치과용 레이저가 사용되고 있는 상태에서 Nd:YAG레이저로 구강내 조직의 손상 양태와 치유과정을 연구한 자료가 거의 없는 실정이기에 본 연구는 예비실험을 통해 레이저 조사 깊이의 표준화를 도모하고 창상 치유과정중 면역계세포 및 분화하는 상피세포의 지표이면서 세포-세포 및 세포-세포외기질의 부착에 관여하는 CD44 항체를 적용하여 그 치유과정을 살펴보고자 하였던 바, 레이저가 수술칼보다 다소 빠른 치유를 보인다는 결과를 얻었다.

이를 통해 볼 때, 펄스식 Nd:YAG레이저를 이용한 구강내 연조직의 절개시 출혈이 없어 시술 부위를 육안으로 관찰하기에 용이할 뿐 아니라 창상부의 봉합 필요성을 줄이며 치유속도면에서도 양호한 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 본 실험은 실험의 표준화를 위해 3W, 20Hz로 1회의 레이저조사만 시행하였던 바, 실제 임상에서는 수 회, 다양한 출력 및 펄스수로 절개를 시행하는 경우가 많으므로 본 연구의 결과를 임상적으로 이용하기 위해서는 레이저 조사조건을 다양화하고 보다 심부조직 및 절개와 절제부를 함께 포함시키는 등의 여러 변수를 포함시켜 연구하는 것이 필요할 것으로 사료되며 CD44 및 창상치유과정에 관여하는 다양한 물질에 대한 실험을 병용하여 각각의 의미를 심도있게 해석하는 등 다각적인 시도가 필요하다 하겠다.

## V. 결 론

구강 연조직 질환의 치료에 이용되는 펄스식 Nd:YAG레이저와 기존의 수술칼에 의한 창상의 치유과정을 비교해 보고자 흰쥐 혀점막의 우측은 레이저로 좌측은 수술칼로 각각 길이 5mm의 절개를 가한 직후, 6시간후, 1일후, 2일후, 4일후, 7일후, 11일후, 21일후에 희생시켜 육안 관찰 및 CD44 항체를 이용한 면역조직화학염색을 행한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 육안으로 볼 때 레이저와 수술칼에 의한 창상의 치유는 큰 차이가 없었다.
2. 레이저창상은 약간의 탄화와 불규칙한 변연을

가진 건조한 소견을 보인 반면, 수술칼창상은 명확하나 출혈이 관찰되었다.

- 레이저 및 수술칼창상의 치유기간동안 상피조직내 CD44의 발현은 유사한 소견을 나타내었다.
- 고유판 및 근육층에서, 레이저창상의 CD44 발현은 수술칼창상에 비해 서서히 증가되었다가 빠르게 정상으로 회복되었다.

결론적으로, CD44의 발현을 통해 볼 때 Nd:YAG 레이저에 의한 절개법이 수술칼보다 구강점막 창상의 치유시 다소 효과적인 것으로 생각된다.

### 참고문헌

- Miserendino LJ and Pick RM : Lasers in Dentistry. Quintessence Publishing Co., Chicago, pp. 27-38, 1995.
- Maiman TH : Stimulated optical radiation in ruby. Nature 187:493-494, 1960.
- 박준상, 김기석: 레이저치의학. 덴탈기획, 서울, pp. 32-74, 1984.
- Pulsed Nd:YAG laser system operator manual. SunLase Master. Sunrise Technologies, 1995.
- Miserendino LJ, Levy G and Miserendino CA : Laser interaction with biologic tissues. In Lasers in Dentistry. Quintessence Publishing Co., Chicago, pp. 39-54, 1995.
- Kennel SJ, Lankford TK, Foote LJ, Shinpock SG and Stinger C : CD44 expression on murine tissues. J Cell Sci 104:373-382, 1993.
- Huet S, Groux H, Caillou B et al. : CD44 contributes to T cell activation. J Immunol 143(3):798-801, 1989.
- Koopman G, van Kooyk Y, de Graaff M et al. : Triggering of the CD44 antigen on T lymphocytes promotes T cell adhesion through the LFA-1 pathway. 145(11):3589-3593, 1990.
- Shimizu Y, van Seventer GIJSA, Siraganian R, Wahl L and Shaw S : Dual role of the CD44 molecule in T cell adhesion and activation. J Immunol 143(8):2457-2463, 1989.
- Huet S, Groux H, Caillou B et al. : CD44 contributes to T cell activation. J Immunol 143:798-801, 1989.
- Shimizu Y, van Seventer GA, Stiraganian R, Wahl L and Shaw S : Dual role of the CD44 molecule in T cell adhesion and activation. J Immunol 143:2457-2463, 1989.
- Koopman C, van Kooyk Y, de Graaff M et al. : Triggering of the CD44 antigen on T lymphocytes promotes T cell adhesion through the LFA-1 pathway. J Immunol 145:3589-3593, 1990.
- Culty M, Miyake K, Kincade PW et al. : The hyaluronate receptor is a member of the CD44 (H-CAM) family of cell surface glycoproteins. J Cell Biol 111:2765-2774, 1990.
- Nakamura H, Kenmotsu S, Sakai H and Ozawa H : Localization of CD44, the hyaluronate receptor, on the plasma membrane of osteocytes and osteoclasts in rat tibiae. Cell Tissue Res 280:225-233, 1995.
- Brown TA, Bouchard T, John TS, Wayner E and Carter WG : Human keratinocytes express a new CD44 core protein(CD44E) as a heparan-sulfate intrinsic membrane proteoglycan with additional exons. J Cell Biology 113(1):207-221, 1991.
- Hay ED : Cell Biology of Extracellular Matrix. 2nd eds. Plenum press, New York and London, pp. 305-311, 1991.
- Fisher SE, Frame JW, Browne RM and Tranter R : A comparative histological study of wound healing following CO<sub>2</sub> laser and conventional surgical excision of canine buccal mucosa. Arch Oral Biol 28:287-291, 1983.
- Luomanen M, Meurman JH and Lehto V-P : Extracellular matrix in healing CO<sub>2</sub> laser incision wounds. J Oral Pathol 16:322-331 1987.
- Luomanen M and Virtanen I : Distribution of tenascin in healing incision, excision and laser sounds J Oral Pathol Med 22:41-45, 1993.
- Luomanen M and Virtanen I : Healing of laser and scalpel incision wounds of rat tongue mucosa as studied with cytokeratin antibodies. J Oral Pathol 16:139-144, 1987.
- Luomanen M, Lehto V-P and Meurman JH : Myofibroblasts in healing laser wounds of rat tongue mucosa. Arch Oral Biol 84:17-23, 1988.
- Romanos GE, Pelekanos S and Strub JR : Effects of Nd: YAG laser on wound healing processes: Clinical and immunohistochemical findings in rat skin. Lasers in Surgery and Medicine 16:368-379,

- 1995.
23. White JM, Goodies HE and Rose C.L. : Use of pulsed Nd:YAG laser for intraoral soft tissue surgery. *Lasers in Surgery and Medicine* 11:455-461, 1991.
  24. White JM and Goodis HE : Histologic effects of high-repetition pulsed Nd:YAG laser on intraoral soft tissue. *Proceedings of Lasers in dentistry*, 2394:143-153, 1995.
  25. Pick RM : Using lasers in clinical dental practice. *J Am Dent Assoc* 24:37-47, 1993.
  26. Goldstein A, White JM and Pick RM : Clinical applications of the Nd:YAG laser. In *Lasers in Dentistry*. Quintessence Publishing Co., Chicago, pp. 199-215, 1995.
  27. 최중호, 박준상, 고명연, 박봉수 : 펄스식 Nd:YAG 레이저 조사에 따른 성체 흰쥐 허배면 점막의 변화. *대한구강내과학회지* 21(1):183-196, 1996
  28. Fitzpatrick TB : *Dermatology in general medicines*. 3th eds., McGRAW-HILL, New York, p. 321, 1987.
  29. Sabiston, DC : *Textbook of surgery*, 10th eds., Saunders, Philadelphia, p. 193, 1986.
  30. Lafuma C, El-Nabout RA, Crechet F, Hovnanian A and Martin M : Expression of 72-kDa gelatinase (MMP-2), collagenase (MMP-1), and tissue metalloproteinase inhibitor (TIMP) in primary pig skin fibroblast cultures derived from radiation-induced skin fibrosis. *J Invest Dermatol* 102(6):945-950, 1994.
  31. Kirchberg K, Lange TS, Klein EC et al. : Induction of beta 1 integrin synthesis by recombinant platelet-derived growth factor (PDGF-AB) correlates with an enhanced migratory response of human dermal fibroblasts to various extracellular matrix proteins. *Exp Cell Res* 220(1):29-35, 1995.
  32. Shah M, Foreman DM and Ferguson MW : Neutralisation of TGF-beta 1 and TGF-beta 2 or exogenous addition of TGF-beta 3 to cutaneous rat wounds reduces scarring. *J Cell Sci* 108:985-1002, 1995.
  33. Zambruno G, Marchisio PC, Marconi A et al. : Transforming growth factor-beta 1 modulates beta 1 and beta 5 integrin receptors and induces the de novo expression of the alpha v beta 6 heterodimer in normal human keratinocytes: implications for wound healing. *J Cell Biol* 129(3):853-865, 1995.
  34. Breuss JM, Gallo J, DeLisser HM et al. : Expression of the beta 6 integrin subunit in development, neoplasia and tissue repair suggests a role in epithelial remodeling. *J Cell Sci* 108:2241-2251, 1995.
  35. de Vries HJ, Zeegelaar JE, Middelkoop E et al. : Reduced wound contraction and scar formation in punch biopsy wounds. Native collagen dermal substitutes. A clinical study. *Br J Dermatol* 132(5):690-697, 1995.
  36. Forsberg E, Hirsch E, Frohlich L et al. : Skin wounds and severed nerves heal normally in mice lacking tenascin-C. *Proc Natl Acad Sci* 93(13):6594-6599, 1996
  37. Dawson RA, Goberdhan NJ, Freedlander E and MacNeil S : Influence of extracellular matrix proteins on human keratinocyte attachment, proliferation and transfer to a dermal wound model. *Burns* 22(2):93-100, 1996.
  38. Spandow O, Hellstrom S and Dahlstrom M: Structural characterization of persistent tympanic membrane perforations in man. *Laryngoscope* 106:346-352, 1996.
  39. Gailit J and Clark RA : Studies in vitro on the role of alpha v and beta 1 integrins in the adhesion of human dermal fibroblasts to provisional matrix proteins fibronectin, vitronectin, and fibrinogen. *J Invest Dermatol* 106(1): 102-108, 1996.
  40. Xu J and Clark RA : Extracellular matrix alters PDGF regulation of fibroblast integrins. *J Cell Biol* 132:239-249, 1996.
  41. Clark RA, Ashcroft GS, Spencer MJ, Larjava H, and Ferguson MW : Re-epithelialization of normal human excisional wounds is associated with a switch from alpha v beta 5 to alpha v beta 6 integrins. *Br J Dermatol* 135(1):46-51, 1996.
  42. Cooper ML, Hansbrough JF and Polarek JW : The effect of an arginine-glycineaspartic acid peptide and hyaluronate synthetic matrix on epithelialization of meshed skin graft interstices. *J Burn Care Rehabil* 17(2):108-116, 1996
  43. Penneys NS : CD44 expression in normal and inflamed skin. *J Cutan Pathol* 20:250-253, 1993.
  44. 박봉수 : 흰쥐의 치근과 치주조직 발생 시 복합당질과 CD44 분포에 관한 연구. *대한구강해부학회지* 19(1):51-64, 1995.
  45. Alho AM and Underhill CB : The hyaluronate receptor is preferentially expressed on proliferating epithelial cells. *J Cell Biol* 108:1557-1565 1989.

- 
46. Huges DE, Salter DM and Simpson R : CD44 Expression in human bone: a novel marker of osteocytic differentiation. *J Bone Miner Res* 9:39-44 1994.
  47. Sy MS, Guo YJ and Stamenkovic I : Distinct effects of two CD44 isoforms on tumor growth in vivo. *J Exp Med* 174:859-866, 1991.
  48. Luomanen M and Virtanen I : Fibronectins in healing incision, excision and laser wounds. *J Oral Pathol Med* 20:133-138, 1991.
  49. Yamamoto H, Atsumi K and Kusari H : Wound healing process following cryosurgery and Nd:YAG laser therapy of the oral mucosa in rabbit. In *Laser in dentistry*, Amsterdam. Excerpta Medica, pp. 91-97, 1989.

---

- ABSTRACT -

## CD44 EXPRESSION IN HEALING ND:YAG LASER WOUNDS AND SCALPEL INCISIONS OF THE RAT TONGUE MUCOSA

Mi-Hee Park\*, June-Sang Park\*, Myung-Yun Go\*, Bong-Soo Park\*\*

*Department of Oral Medicine\*, Department of Anatomy\*\*, college of Dentistry, Pusan National University*

This study was undertaken to compare and investigate the wound healing process following Nd:YAG laser wounds and scalpel incisions of the rat tongue dorsal mucosa. Laser wounds were made parallel on the right side of tongue dorsum and scalpel incisions were made on the left side with 5mm length, respectively. Visual inspection and immunohistochemistry with CD44 antibody after immediately, 6 hours, 1 day, 2, 4, 7, 11, 21 days after surgery were carried out.

The results were as follows :

1. There was macroscopically no great difference between laser wounds and scalpel incisions.
2. Laser wounds appeared as dry, bloodless and irregular grooves with carbonization and whitening of superficial tissues compared to sharp, straight and bleeding incisions using scalpel.
3. In the epithelium of rat tongue mucosa, CD44 expression in healing laser wounds and scalpel incisions were similar.
4. In the lamina propria and muscle layer, CD44 expression in healing laser wounds gradually increased earlier and decreased faster than scalpel incisions.

Conclusively, it is suggested that pulsed Nd:YAG laser has more beneficial effect on the healing of wounded oral mucosa than scalpel in view of CD44 expression.

---

## LEGENDS FOR FIGURES

- Fig. 1. Pulsed Nd:YAG laser with fiberoptic delivery system.
- Fig. 2. Four incised wounds of rat tongue mucosa with laser(below) and scalpel(upper).
- Fig. 3. Resin blocked No. 15 scalpel with 1mm exposed end.
- Fig. 4. CD44 antibody reaction of the normal rat tongue mucosa. The cell membranes of lower spinous and basal layer show strong positive immunoreactivity, and the cell membranes of upper spinous layer show moderate immunoreactivity. In the lamina propria and muscle layer, the endothelial cells and immunological cells suggesting dendritic cell, lymphocyte and macrophage show strong positive immunoreactivity, and extracellular matrix show no positive immunoreactivity. X200
- Fig. 5. CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa immediately after laser wounds. No changes in the CD44 distribution are observed at any wound sites when compared to the normal tongue mucosa. All the wounds extended from epithelial tissues to superior portion of muscle layer. X100
- Fig. 6. CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 6 hours after laser wounds. The epithelial tissue adjacent wound site was not changed when compared to the normal tongue mucosa. Note numerous CD44 positive cells at wound sites of the lamina propria and muscle layer. Arrow indicates degenerating cells. X100
- Fig. 7, 8. CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 1 day after laser wounds. The cell membranes of basal, spinous and lower granular layer on the epithelial tissue adjacent to wound site show a very strong positive immunoreactivity. Note moderately increased numbers of CD44 positive cells and a strong positive immunoreactivity of extracellular matrix at wound sites of the lamina propria and muscle layer. Arrow indicates degenerated necrotic material. Fig. 7.:X100, Fig. 8.:X200
- Fig. 9. CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 2 days after laser wounds. The crater area above regenerating epithelium is shown. Especially in the lamina propria area below center of regenerating epithelial tissue, markedly aggregated CD44 positive cells and positive immunoreactivity of extracellular matrix is shown. Moderately increased numbers of CD 44 positive cells and extracellular matrix in muscle layer and adjacent to wound sites is shown. X100
- Fig. 10, 11. CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 4 days after laser wounds. The structural re-epithelization seems to be almost complete. The cell membranes of basal and entire spinous layer in the regenerated epithelial tissue show a very strong positive immunoreactivity. Note decreased numbers of CD44 positive cells in lamina propria but slightly increased immunoreactivity of extracellular matrix in muscle layer than 2 days after lasing is shown. Fig. 10.:X100, Fig. 11.:X200
- Fig. 12. CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 7 days after laser wounds. The distribution of CD44 in epithelial tissues adjacent to wound sites be found normal epithelium. Note markedly decreased numbers of CD44 positive cells and decreased immureactivity of extracellular matrix at wound sites of the muscle layer and adjacent connective tissues to wound sites. X100
- Fig. 13. CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 11 days after laser wounds. The distribution of CD44 in epithelial tissues at wound sites is similar to normal epithelium but still slightly increased. The markedly decrease of positive immunoreactivity on the lamina propria

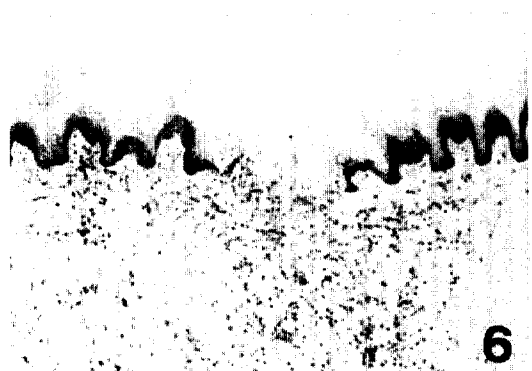
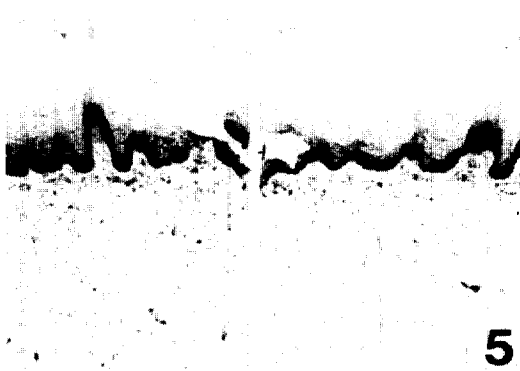
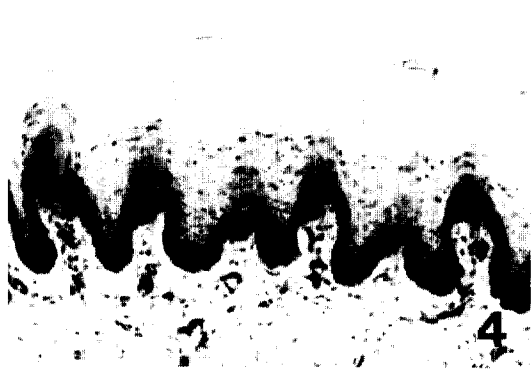
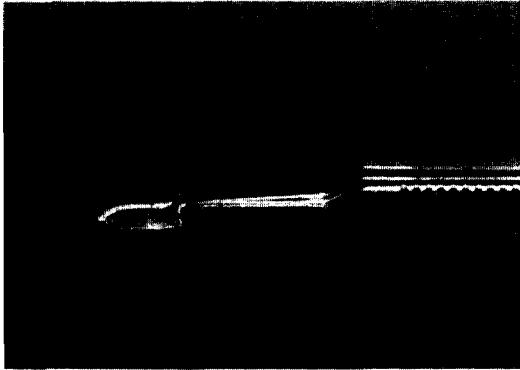
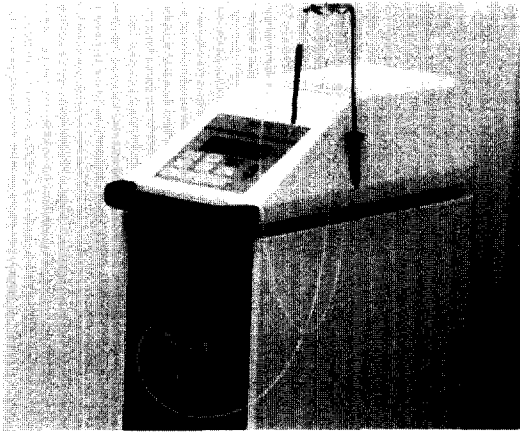


---

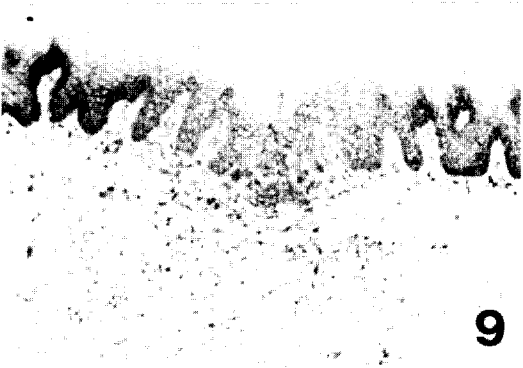
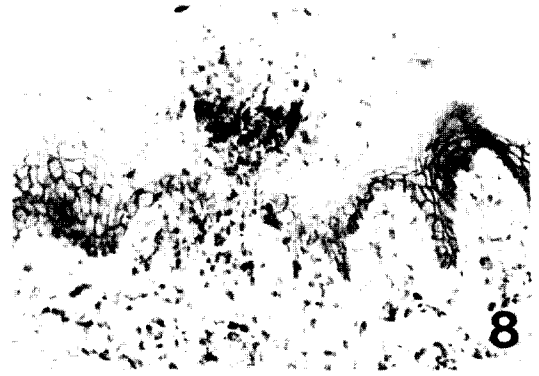
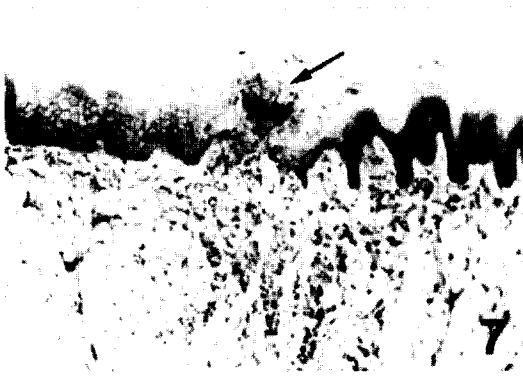
and muscle layer is observed. X100

- Fig. 14.** CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 21 days after laser wounds. The immunohistochemical finding is same that of normal rat tongue mucosa. Note remarkable subsidence of immunoreactivity in both epithelial tissue and lamina propria comparing to scalpel incision groups. X100
- Fig. 15.** CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa immediately after scalpel incisions. No changes in the CD44 distribution are observed at any wound sites when compared to the normal tongue mucosa. All the wounds extended from epithelial tissues to superior portion of muscle layer. Deformation and damage in superficial blood vessels beneath wound is prominent. X100
- Fig. 16.** CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 6 hours after scalpel incisions. The separation of wound sites to subepithelial connective tissues is still observed. Epithelial tissue adjacent wound site is not changed when compared to the normal tongue mucosa. Note aggregation of numerous CD44 positive cells. Arrows indicate positive immunoreactivity of extracellular matrix at wound edge of the lamina propria and muscle layer. X100
- Fig. 17, 18.** CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 1 day after scalpel incisions. The cell membranes of migrating cells (arrow) on epithelium adjacent to wound site show strong positive immunoreactivity. Note markedly increased numbers of CD44 positive cells and positive immunoreactivity of extracellular matrix at wound sites and periphery of the lamina propria and muscle layer when compared to the normal mucosa. Fig. 17.:X100, Fig. 18.:X200
- Fig. 19.** CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 2 days after scalpel incisions. Note a very strong positive immunoreactivity on cell membranes of regenerating basal and spinous layer. The distribution of CD44 in lamina propria and muscle layer is almost similar when compared to 2 days after lasing (Fig. 8). But aggregation of CD44 positive cells in lamina propria is less dense. X100
- Fig. 20, 21.** CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 4 days after scalpel incisions. The deep crater area above regenerating epithelium is still shown. The cell membranes of basal and spinous layer in the regenerated epithelial tissue show strong positive immunoreactivity. Note markedly increased numbers of CD44 positive cells and a very strong positive immunoreactivity of extracellular matrix at wound sites of the lamina propria and especially muscle layer. Arrow indicates migrating macrophages into regenerating wound site. Fig. 20.:X100, Fig. 21.:X400
- Fig. 22.** CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 7 days after scalpel incisions. The decreased immunoreactivity of muscle layer than 4 days after scalpel surgery is shown. Note relatively increased positive immunoreactivity at regenerating muscle layer when compared to the laser surgery group at 7 days (Fig. 10). X100
- Fig. 23.** CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 11 days after scalpel incisions. Note relatively increased positive immunoreactivity of regenerating lamina propria and muscle layer when especially compared to the laser surgery group at 11 days (Fig. 11). X100
- Fig. 24.** CD44 antibody reaction of the rat tongue mucosa at 21 days after scalpel incisions. The immunohistochemical finding is similar that of normal tongue mucosa. Note relatively increased positive immunoreactivity at lamina propria when compared to normal tongue mucosa. X100.

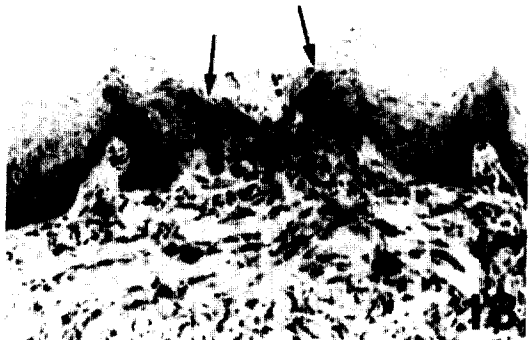
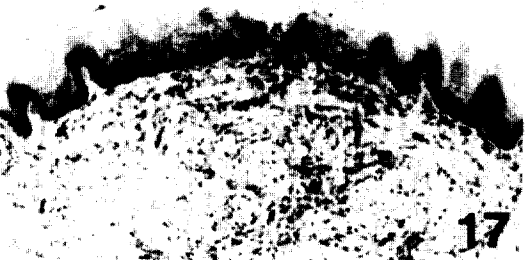
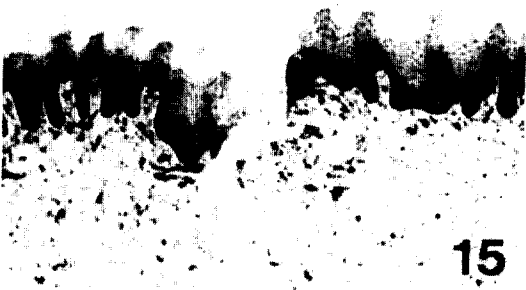
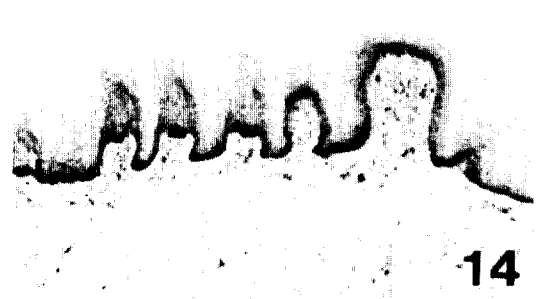
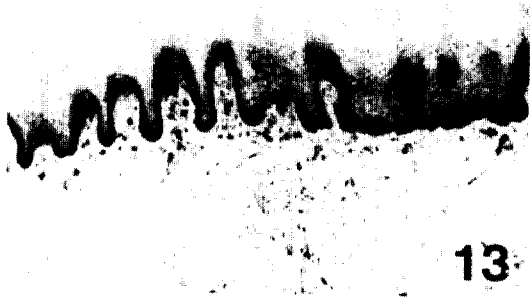
논문사진부도 ①



논문사진부도 ②



논문사진부도 ③



논문사진부도 ④

