

# 치과용 레이저 조사가 배양 치수 섬유모세포에 미치는 영향에 관한 연구

경희대학교 치과대학 치과보존학교실

정혜전 · 민병순

## 목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록
- 사진부도 및 설명

## I. 서 론

레이저는 1960년 Maiman<sup>1)</sup>이 합성 루비결정을 통과시킨 투과광으로부터 최초로 발견하고, 그 후 1965년 McGuff<sup>2)</sup> 등이 고출력 레이저를 외과수술에 사용하여 처음으로 의학에 응용된 이래, 최근 치과영역에서도 광범위하게 사용되고 있으며, 그 임상적 효과는 연조직 뿐만 아니라 경조직 치료에도 응용되고 있다. 레이저는 광이 조직에 흡수될 때 빛 에너지가 열로 전환되어 조직액을 비등시킨 뒤 조직 구성성분을 증발시켜 생물체를 절단하는 효과와, 특정 조직의 응고를 야기시켜 주위조직에 부속적인 반응을 일으키는 효과가 있다.

1971년 Mester<sup>3)</sup>에 의해 저출력 레이저로 창상

치유에 성공한 이래, 저출력 레이저의 광생물학적, 광화학적 작용기전에 대한 많은 연구가 이루어져 왔으며, 연조직의 치유촉진, 소염 및 진통의 목적으로 사용되고 있다. 저출력 레이저종류에는 He-Ne (Helium-Neon, 파장 632.8nm, soft laser, 5mm침투) 레이저와 적외선 Ga-As (Gallium-Arsenide, 파장 904nm, medium laser, 35-40mm침투) 레이저가 있다.

저출력 레이저의 작용기전에 대하여, Pilikin<sup>4)</sup>은 조직내 온도상승에 의한 열효과라 하였고, Hansen<sup>5)</sup>은 생물학적으로 분자를 활성화시키는 광화학적, 효과라 하였으며, Kubasova<sup>6)</sup>는 세포 내외 성분간의 이온이동을 촉진시키는 작용, Bosatra<sup>7)</sup>는 사립체내 cytochrome oxidase를 통한 사립체 기능향진작용으로, Olson<sup>8)</sup>은 세포 호흡과정 중 cytochrome a를 통한 세포막 재분극에 대한 광화학적 작용으로, Lam<sup>9)</sup>은 단백질합성에 관한 광화학적 작용으로, Albergel<sup>10)</sup>은 RNA합성 촉진작용으로, 그리고 Goldman<sup>11)</sup>은 DNA에 대한 공명작용으로 보고한 바 있으나, 현재까지도 그 기전은 분명히 밝혀지지 않고 있다.

저출력 레이저를 이용한 연구는, Dyson과 Young,<sup>12)</sup> Mester 등,<sup>13)</sup> Palmieri와 Vecchiati<sup>14)</sup> 및 Kana 등<sup>15)</sup>은 동물실험을 통하여 창상치유에 미치는 영향에 대해 보고한 바 있고, 신경전도에 미치는 영향에 관해 Nissan 등<sup>16)</sup> 및 Rochkind

등<sup>17)</sup>의 보고들이 있다. 혈관벽의 재생에 미치는 영향에 관해서는 White 등<sup>18)</sup> 및 Godlewski 등<sup>19)</sup>의 보고가 있으며, 사람의 턱관절이나 구강, 얼굴 부위의 동통을 완화시킨다는 Hansson,<sup>20)</sup> Hansen과 Thoro,<sup>5)</sup> Walker<sup>21)</sup> 및 Zakariasen과 Dederich 등<sup>22)</sup>의 보고가 있다. 한편, 시험관내 실험으로는 관절연골세포를 이용한 Bassler 등<sup>23)</sup>의 보고가 있으며, 피부 섬유모세포에 미치는 영향에 대하여 Balboni 등,<sup>24)</sup> Tocco 등,<sup>25)</sup> Lam 등<sup>26)</sup>의 보고가 있고, 조직배양시 대사 및 면역체계에 미치는 영향에 관해서는 Mester 등,<sup>27)</sup> White 등,<sup>18)</sup> Godlewski 등<sup>19)</sup>의 보고들이 있다. 이러한 선학들의 연구결과 저출력 레이저는 의학적으로 여러 방면에 걸쳐 응용될 수 있음이 밝혀지고 있으나 치과영역에 대한 연구는 드문 실정이다.

치과영역에서는 구강악안면부위 질환의 소염진통 및 창상치유촉진 등의 목적으로 저출력 레이저가 응용되고 있으나 효과나 기전에 관해서는 아직까지 논란의 여지가 많다. 대부분의 동물실험과 임상적 관찰에 의해 저출력 레이저의 치주병소나 피부병소에 대한 창상치유의 촉진효과가 입증되고 있는 바, 이에 대한 세포수준의 생화학적 및 분자 생물학적 차원에서 정확한 분석이 요구된다. 최근 저출력 레이저조사가 세포분열을 유도하고,<sup>28)</sup> 모세혈관의 밀도를 변화시키며,<sup>29)</sup> 교원질의 유전자 발현을 유도하고,<sup>10)</sup> 섬유모세포의 증식을 촉진시키며,<sup>30,33)</sup> 치은 섬유모세포내 산화효소 및 RNA를 증가시킨다는 등, 임상결과와 일치하는 시험관내 실험의 결과들이 다수 보고된 바 있다. 그러나 저출력 레이저의 이러한 작용기전은 여러 가지로 추정되고 있을 뿐이며 확실한 보고는 매우 부족한 실정이다. 특히 치아경조직 속에 위치하고 그 기계적, 화학적 영향을 직접 받는 치수조직에 대한 레이저의 영향에 대한 연구는 불분명하다.

치수는 치배의 치유두에서 유래하여 치수관을 채우는 소성결합조직으로, 기능적으로 상아질의 형성, 영양, 지각, 수복 및 치수의 방위를 담당하고 있다. 치수의 구성 성분은 일반 소성결합조직과 같이 세포와 세포외기질로 구성되며, 치수를 구성하는 세포성분으로는 상아모세포, 섬유모세포 및 미분화간엽세포 등이 있다. 치수의 세포

외기질은 세포와 섬유 사이를 채우고 있는 물질로서, 교원질과 단백질, 및 당단백 등을 함유하고, 이러한 성분들은 세포를 유지하는 역할과 영양 및 대사물질의 수송 매체로서의 기능을 한다. 치아형성시 상아모세포는 상아기질이라 불리는 독특한 석회화기질을 합성 분비하는데, 이 상아모세포는 외배엽성 간엽으로 구성된 치유두 세포에서 분화, 이동되어 상피근초에 부착된 후 상아질을 형성하게 된다. Thesleff 등<sup>34,35)</sup>은 이러한 치수의 형성과정이 여러 가지 세포의 기질성분과 세포의 상호작용에 의해 이뤄진다고 하였다.

치수의 치유과정 중 손상받은 상아모세포를 대체시키는 전구세포의 기원에 대해 Torneck,<sup>36)</sup> Ruch<sup>37)</sup> 및 Veis 등<sup>38)</sup>은 치수의 가장자리에 위치한 세포치밀층에서부터 미성숙 상아모세포가 증식, 이동하여 부착한다고 하였고, Fitzgerald<sup>39,40)</sup>와 Yamamura<sup>41)</sup>는 치관 세포의 중심에서 손상부위로 치수 섬유모세포, 혈관벽세포 혹은 미분화간엽세포들이 이동, 증식하여 기질형성세포의 특징을 가지는 분화된 상아모세포로 발육된다고 하였다. 이러한 치수조직의 발육과정, 병적과정 및 치유과정시 치수세포의 분화, 증식을 활성화시키는데 레이저조사의 역할이 기대된다.

본 연구는 레이저응용의 기초적 지식을 제공하고 레이저의 치과적 응용을 활성화 하기 위하여 Ga-As 반도체 레이저 시스템을 사용, 배양된 사람 치수세포에 조사하여 레이저조사의 최적조건을 검토하고, 레이저 조사 후 세포의 증식 및 형태변화를 관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 레이저 장치

본 실험에 사용한 레이저 장치는 파장이 904nm, 침투력이 35-40mm의 적외선 Ga-As 반도체 레이저인 Dens-Bio Laser (Frequency: 5 Hz~10,000 Hz Model: SD-101A RCA, U.S.A.)를 사용하였다.

## 2) 사람 치수 및 치주조직 섬유모세포의 분리 및 배양

치수 섬유모세포는 교정목적으로 발거된 건강한 치아에서 무균상태로 채취한 치주조직으로부터 explant culture에 의해 얻었다. 치주조직은 10% fetal bovine serum (FBS)이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM)로 37°C, 5% 이산화탄소하에서 배양하였으며, 세포가 얻어지면 동일한 조건하에서 동일한 배양액으로 주 3회 배양액을 교환하면서 계대배양하였다. 이렇게 얻은 세포의 제 5대의 세포를 실험에 사용하였다.

또한 사람 치은 및 치주인대 섬유모세포는 각각 심미적 목적으로 절제된 건강한 치은 조직과, 교정목적으로 발거된 소구치 치주인대조직으로부터, 치수 섬유모세포의 분리와 동일한 방법에 의하여 얻었다. 이들 세포도 제 5대의 세포를 실험에 사용하였다.

## 2. 실험방법

### 1) 레이저 조사

세포 증식능 평가를 위해서는, 치수, 치은 및 치주인대 섬유모세포를 96-well culture plate에 well당 1000개가 되도록 분주하고, 10% FBS-DMEM으로 24시간 배양하여 plate 바닥에 세포가 부착하도록 하였다. 그 후 2시간 간격으로 2분씩 1회에서 5회 레이저를 조사하였다. 이때 각각 다른 레이저의 주파수를 이용하였으며, frequency position 7 (P7; 500 Hz, 1mW, 임상적으로 치수염 치료에 효과적인 주파수), frequency position 9 (P9; 1,500 Hz, 3mW, 임상적으로 치은염, 구내염 치료에 효과적인 주파수), frequency position 14 (P14; 8,000 Hz, 20mW, 임상적으로 치주염 치료에 효과적인 주파수)을 선택하여 조사하였다.

세포의 미세구조 변화를 관찰하기 위한 전자현미경 표본을 만들기 위해서 35 mm culture dish 안에 cover glass를 위치시키고, 5000개의 세포를 분주하였다. 10% FBS-DMEM에서 24시간 배양하여 glass에 세포가 부착하도록 하였다. 그 후 P7의 주파수에서 2시간 간격으로 2분

씩 3회에서 5회 조사하였다.

### 2) 세포 증식능의 평가

레이저조사 24시간 후 세포의 증식능을 평가하기 위해 MTT assay를 시행하였으며, Microplate Reader (Model 550, Bio-Rad, U.S.A.)로 비색도를 측정하였다.

### 3) 세포 미세구조 변화의 관찰

#### (1) 주사전자현미경적 관찰

레이저조사 24시간 후, phosphate buffered saline (PBS)으로 2회 수세하고 10% formalin으로 30분간 고정한 후 PBS로 2회 수세하여 1% osmium tetroxide로 1시간동안 후고정하고, 일련의 알코올로 탈수하였다. 그 후 임계점 건조기로 건조시키고 ion coater로 관찰할 면에金を 증착하여 주사전자현미경 (Hitachi S-2300, Japan)으로 관찰하였다.

#### (2) 투과전자현미경적 관찰

레이저조사 24시간 후, PBS로 2회 수세하고 0.1 M cacodylate buffer (pH 7.2)에 용해시킨 2.5% glutaraldehyde로 30분 고정시키고 PBS로 수세 후 1% osmium tetroxide에 후고정하고 1% uranyl acetate로 전자염색한 후 일련의 알코올로 탈수한 후 Epon 혼합액으로 포매하였다. 포매된 시료를 RMC MTX 초박절편기로 600-900 Å 두께로 잘라 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색, 투과전자현미경 (JEOL 1010, Japan)으로 관찰하였다.

#### (3) Actin 세포화학 형광염색 관찰

레이저조사 24시간 후 배양액을 제거하고 PBS로 2회 수세한 후 saponin (50 µg/ml in PBS)으로 5분간 처리하였다. 그 후 다시 PBS로 2회 수세한 후 10% formalin-PBS에서 10분간 고정 후 PBS로 철저히 세척하였다. 그 후 fluorescein isothiocyanate (FITC) conjugated phalloidin (Sigma, U.S.A.)으로 30분간 반응시키고 PBS로 세척한 다음 glycerin으로 mounting하여 FITC 형광 barrier filter가 부착된 Leica Micro Star IV으로 관찰하였다.

### III. 실험성적

#### 1. 세포증식능의 평가

Table 1과 Fig. 1은 서로 다른 주파수로 레이저를 조사한 후 치수세포의 세포증식능의 변화를 대조군에 상대적 백분율로 나타낸 결과이다. 치수세포의 경우, 주파수의 차이에서는 세포증식능의 차이를 보이지 않았으나, 레이저 조사 회수에 있어서는, 1회에서 3회까지는 대조군에 비해 큰 차이를 보이지 않았으나, 4회 조사시에는 대조군에 비해 165-174%까지 크게 세포증식능이 증가하였다.

이에 비해 치은 섬유모세포는 (Table 2, Fig.

2), 치수 섬유모세포의 경우와 마찬가지로 주파수에는 영향을 받지 않았으나, 조사회수에 있어서는 치수 섬유모세포의 경우와 달리 1회 조사시 가장 큰 세포증식능을 보였으며, 2회 이후부터는 대조군보다 낮은 세포증식능을 보였다.

치주인대 섬유모세포의 경우 (Table 3, Fig. 3) 도 치수 섬유모세포의 경우와 같이 주파수에는 영향을 받지 않았으나, 조사회수에 따라서는, 1회의 경우 대조군과 거의 유사한 세포증식능을 보였으나, 2회, 3회 조사회수가 증가할수록 세포증식능도 증가하였고, 다시 4회, 5회 조사시에는 세포증식능이 감소함을 볼 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 보면, 치수 섬유모세포를 비롯하여 치은과 치주인대 섬유모세포의 증

Table 1. The effect of laser irradiation on the growth of pulp fibroblasts at various frequency position. The data represent the relative value to the control group.

| No of irradiation<br>Frequency position | 1       | 2       | 3       | 4       | 5       |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|
| P7                                      | 101±1.2 | 106±0.8 | 104±1.2 | 165±4.6 | 97±2.8  |
| P9                                      | 101±1.2 | 104±1.0 | 108±0.7 | 170±1.1 | 101±2.6 |
| P14                                     | 105±1.3 | 107±1.6 | 105±0.8 | 174±6.1 | 121±3.8 |

Unit % (Mean ± S.D.)

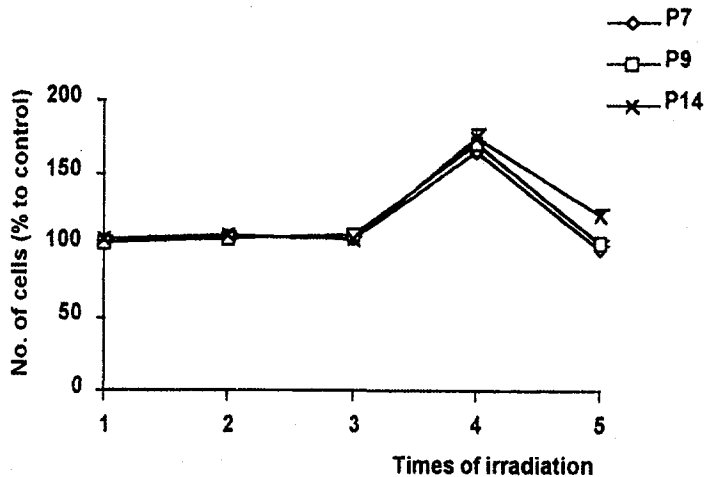


Fig. 1. Growth pattern of the pulp fibroblast after laser irradiation.

Table 2. The effect of laser irradiation on the growth of gingival fibroblasts at various frequency position. The data represent the relative value to the control group.

| No of irradiation<br>Frequency position | 1       | 2      | 3       | 4      | 5       |
|---|---------|--------|---------|--------|---------|
| P7                                      | 123±2.2 | 87±6.8 | 91±2.4  | 92±1.5 | 100±1.1 |
| P9                                      | 133±1.7 | 86±2.5 | 98±2.0  | 89±1.2 | 95±1.7  |
| P14                                     | 138±1.1 | 87±1.0 | 103±1.2 | 87±0.7 | 104±0.6 |

Unit % (Mean ± S.D.)

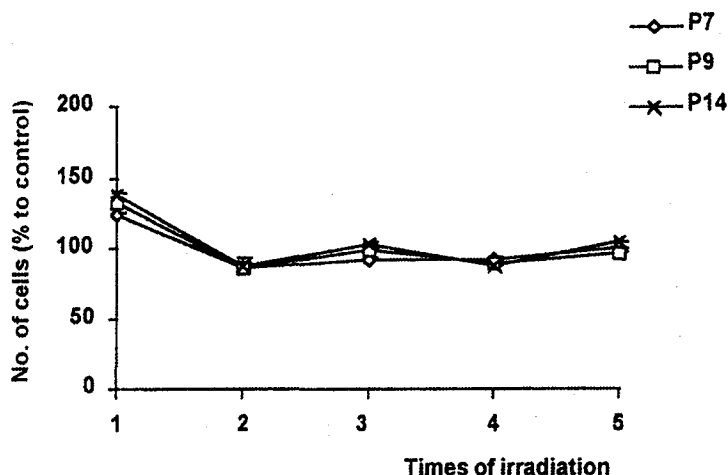


Fig. 2. Growth pattern of the gingival fibroblast after laser irradiation.

식에는 레이저의 주파수는 큰 영향을 미치지 않음을 볼 수 있었다.

같은 주파수 (P7)를 비교해 보면 (Fig. 4), 치수 섬유모세포는 4회 조사시 가장 큰 증식능을 보였으며, 이에 비해 치은 섬유모세포의 경우는 1회 조사시 가장 큰 증식능을 보였고, 치주인대 섬유모세포는 3회 조사시 가장 큰 세포증식능을 보여, 치수 섬유모세포는 레이저에 대한 감수성이 다른 섬유모세포와는 다르게 나타남을 볼 수 있었다.

## 2. 주사전지현미경적 소견

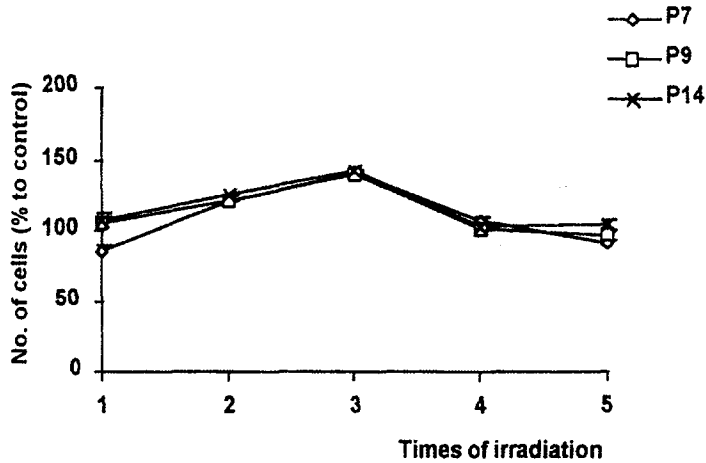
대조군의 치수세포를 확대한 입체구조는 납작

한 방추형의 세포로 나타났고 (Fig. 5b). 레이저 조사군의 경우는 세포증식능과 마찬가지로 주파수의 변화에 따른 차이는 관찰되지 않았으며, 조사회수에 따른 차이를 관찰할 수 있었다. 레이저 3회 조사후의 치수세포는 세포의 기능향진시 확장되어 퍼지게 되는 세포돌기가 변화된 것으로 추측되는 불규칙적인 돌기형태가 관찰되었는데, 이것은 세포의 표면적을 넓힘으로써 물질의 흡수나 호르몬 분비작용에 기여하고 있는 것으로 생각된다. 레이저 5회 조사 후 많은 미세융모 (microvilli)를 가지고 심한 굴곡을 이루고 있는 형태의 세포막을 볼 수 있었다 (Fig. 6b). 이와 같은 구조는 세포 표면적을 넓게 할 뿐 아니라 세포와 세포의 결합력을 강하게 하는데 기여하

**Table 3.** The effect of laser irradiation on the growth of periodontal ligament fibroblasts at various frequency position. The data represent the relative value to the control group.

| No of irradiation<br>Frequency position | 1       | 2       | 3       | 4       | 5       |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|
| P7                                      | 98±4.2  | 121±0.7 | 141±0.9 | 107±3.0 | 91±2.3  |
| P9                                      | 105±8.3 | 121±1.3 | 140±0.8 | 102±1.2 | 98±2.2  |
| P14                                     | 106±3.9 | 125±0.7 | 142±0.8 | 102±3.3 | 105±2.5 |

Unit % (Mean ± S.D.)



**Fig. 3.** Growth pattern of the periodontal ligament fibroblast after laser irradiation.

는 것으로 관찰되었다.

### 3. 투과전자현미경적 소견

광학현미경 소견에서는 대조군과 레이저 조사 군과의 차이점을 발견하지 못하였으나 투과전자 현미경 소견에서는 몇가지 변화점을 관찰할 수 있었다. 전형적인 변화는 4회 조사군에서, 대조군의 세포는 전형적인 활동성 섬유모세포의 형태가 관찰되어, 많은 수의 조면형질내세망이 나타났다으며, 잘 발육된 골지복합체와 중등도의 숫자를 보이는 사립체 등이 관찰되었으나, 세포 주변에서는 세포의 기질은 거의 관찰되지 않았으

나 (Fig. 5a,c,d), 4회 조사군에서 대조군에 비해 차이점은 사립체의 수가 증가되었고, 크기가 커졌다는 점이다. 또한 미세사띠가 세포막 근처의 세포질 속에서 세포의 장축과 평행하게 관찰되었고, 세포돌기까지도 연장되어 있었다. 세포주위의 바탕질에는 많은 세섬유가 관찰되었다 (Fig. 6a,c,d).

### 4. 세포화학적 소견

대조군의 actin 섬유는 서로 평면적으로 교차하고 그 배열이 불규칙하여 그물상으로 나타났다 (Fig.5e). 세포들의 폭이 좁았으며 세포내의

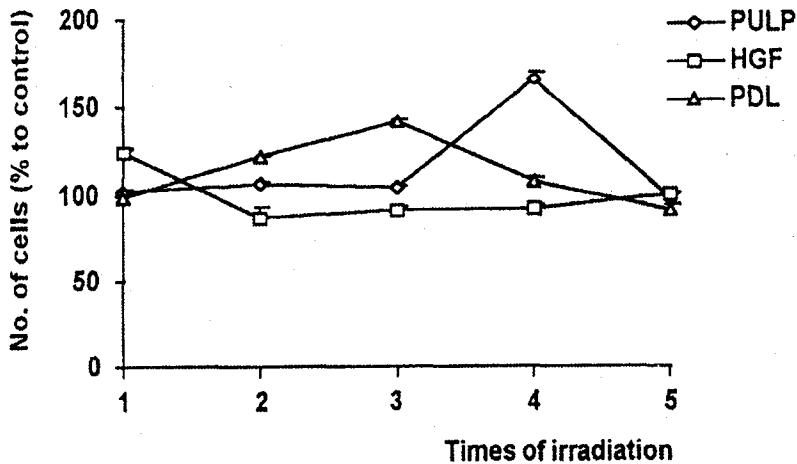


Fig. 4. Summary of growth pattern of the pulp (PULP), gingival (HGF), and periodontal ligament (PDL) fibroblasts after laser irradiation at the frequency position 7.

섬유는 다소 불규칙한 배열을 보였고, actin 섬유는 세포끝까지 뻗지 못하며 세포의 바깥 경계가 뚜렷하게 관찰되었다 (Fig.5f). 한편 레이저조사 세포는 장축방향으로 배열하는 비교적 굵은 actin 섬유가 관찰되며 그 직하에는 서로 교차하는 그물모양의 가는 섬유가 관찰되었다 (Fig.6e). 세포내의 actin 섬유가 치밀하며 세포의 가장자리에서 세포질이 끝나는 부분까지 섬유가 일정하게 연장되어 뻗어 있는 규칙적인 배열을 하고 있는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig.6f).

#### IV. 총괄 및 고안

치과임상에서 저출력 레이저가 많이 이용되어 왔으나 조직반응과 연관된 레이저의 확실한 기전이나 임상적 효과에 대해서는 정립되어 있지 않아 치료의 확신이 부족한 형편이다. 임상에서 자주 접할 수 있는 치수부위의 외상 및 치아우식증으로 인한 염증이나 통증을 호소하는 환자에 대한 치료형태의 하나로 저출력 레이저의 사용에 대한 기초적 근거를 제공할 필요성이 제기되어 왔다.

지금까지 저출력 레이저에 대한 연구를 살펴보면, Belkin과 Schwarz<sup>42)</sup>, Brunner 등<sup>43)</sup> 및 Lyons 등<sup>44)</sup>은 레이저가 피부창상의 치유에 미치는 영향에 관한 연구에서 섬유모세포의 성장촉진과 혈관증식이 된다고 하였으며, Mester 등<sup>27)</sup>은 면역체계의 변화로 치유과정이 촉진된다고 하였고, Kana 등<sup>15)</sup>은 지속적인 레이저 조사는 섬유모세포의 교원질 합성을 증가시킨다고 하였으며, Zakariassen 등<sup>22)</sup>은 1-10 mW의 출력에서 섬유모세포의 세포증식을 자극한다고 보고하여 결합조직 손상에 대한 레이저의 치유촉진효과를 인정하였다.

원래 레이저 (LASER)란 "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation"의 머릿글자에서 유래된 합성어로서 에너지 유도방출에 의한 광증폭현상을 말한다.<sup>45-50)</sup> 레이저는 1917년 Einstein에 의해 이론적으로 근거가 제시<sup>51)</sup>된 이래 여러 종류의 레이저가 개발 활용되고 있다.<sup>52)</sup> 의학분야에서의 레이저의 사용은 초기에는 고출력 레이저에 의한 임상응용이 주류였으나 그 후 저출력 레이저가 개발되어 새로운 응용분야로 확대되었다. 1971년 Adrian 등<sup>52)</sup>이 저

출력 에너지를 난치성 피부결양 치료에 응용한 후 1980년대에 반도체 산업의 발달에 힘입어 의학적 치료에 점차 실용화되고 있다.<sup>45)</sup> 한편 치과 영역에서도 치료효과를 향상시키기 위한 소염, 진통 및 치유촉진 등의 목적으로 저출력 레이저가 응용되고 있으나,<sup>45,46)</sup> 그 효과나 작용기전에서는 논란의 여지가 많은 실정으로 이를 입증해 줄 만한 세포생물학적 연구의 필요성이 요구되고 있다.

본 연구에서 사용한 레이저장치는 파장이 904nm이며 35-40mm의 침투력을 가진 적외선 Ga-As 반도체 레이저인 Dens-Bio Laser (frequency: 5 Hz~10,000 Hz Model: SD-101A RCA, U.S.A.) 기기로, 임상에서 조직재생, 염증완화 및 진통의 효과를 얻도록 광범위하게 주파수가 선정되어 있고 조사시간을 편리하게 조절할 수 있도록 되어 있어, Jarvis 등<sup>53)</sup>이 제시한 저출력 레이저로서 요구되는 가능한 치료출력(0.1-5mW)과 방출시간(20초-15분)에 관한 기준과 Dyson 등<sup>12)</sup>이 제시한 특정 주파수를 선정할 수 있어 본 연구에 적용하기에 합당한 기기이다.

본 연구에서 저출력 레이저조사에 따른 섬유모세포의 성장양상에 대한 분석차원에서 각 해당시기의 대조군의 세포증식율과 비교 산출하여 분석하였는데 이는 대조군의 세포들도 정상 세포주기를 따르기 때문에 단순한 세포 수의 변화를 비교하는 것 보다 각 단위시기의 세포 수 증식을 대조군과 비교하는 것이 진정한 의미의 레이저효과를 설명해 준다고 생각되었기 때문이다. 이에 따라 레이저조사에 따른 섬유모세포의 세포증식율은 치수세포의 경우, 주파수의 차이에 따라서는 차이를 보이지 않았다. 그러나 조사회수에 있어서는, 1회에서 3회 조사시까지는 대조군에 비해 큰 차이를 보이지 않았으나, 4회 조사시 대조군에 비해 165~174%까지 크게 세포증식능이 증가하였다.

이에 비해 치은 섬유모세포의 경우는, 치수 섬유모세포의 경우와 마찬가지로 주파수에는 큰 영향을 받지 않았으나, 치수 섬유모세포의 경우와 달리 1회 조사시 가장 큰 세포증식능을 보였으며, 2회 이후부터는 대조군과 비교하여 낮은

세포증식능을 보였다.

치주인대 섬유모세포의 경우 치수 섬유모세포의 경우와 같이 주파수에는 영향을 받지 않았으며, 조사회수에 따라서는, 1회의 경우 대조군과의 유사한 세포증식능을 보였으나, 2회, 3회로 조사회수가 증가할수록 세포증식능도 증가하였고, 다시 4회, 5회 조사시에는 세포증식능이 감소함을 볼 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 보면, 치수 섬유모세포를 비롯하여 치은과 치주인대 섬유모세포의 증식에는 레이저의 주파수는 큰 영향을 미치지 않음을 볼 수 있었다.

같은 주파수(P7)를 비교해 보면, 치수 섬유모세포는 4회 조사시 가장 큰 증식능을 보였으며, 이에 비해 치은 섬유모세포의 경우는 1회 조사시 가장 큰 증식능을 보였고, 치주인대 섬유모세포는 3회 조사시 가장 큰 세포증식능을 보여, 치수 섬유모세포는 레이저에 대한 감수성이 다른 섬유모세포와는 다르게 나타남을 볼 수 있었다.

유사분열(mitosis)은 일반적으로 광학현미경으로 거의 관찰할 수 없지만 세포의 증식에 기본적인 역할을 하는 과정으로서 존재한다. 이 과정에서 DNA의 복제가 매우 중요한 부분이며, 이는 중간기(interphase)에 일어난다. 중간기는 다시, 유사분열에 의해 반감된 세포용적용 RNA를 통한 단백질 합성으로 정상크기로 회복시키는 G<sub>1</sub>기, DNA와 중심체가 복제되는 S기, 유사분열에 필요한 에너지가 축적되며, 미세소관(microtubule)으로 조립될 튜블린(tubulin)이 합성되는 G<sub>2</sub>기 및 세포주기가 일시적 또는 영구적으로 중단된 상태인 G<sub>0</sub>기로 구분된다.

레이저조사 후 섬유모세포의 세포증식율이 증가된 것은 세포분열주기상 G<sub>0</sub>기의 세포들이 G<sub>1</sub>기로 진입하였거나 혹은 세포분열주기가 짧아졌기 때문인 것으로 생각된다.<sup>54,56)</sup> 이 결과는 대부분의 세포에 있어 세포주기의 길이가 G<sub>1</sub>기의 길이의 차이에서 비롯되고,<sup>55,56)</sup> 특히 G<sub>0</sub>기의 유지여부는 해당세포와 외적 환경과의 관계에서 결정된다는 점에서 더욱 그렇다.<sup>57,58)</sup> 또한 레이저조사에 의하여 섬유모세포의 수가 증가된 것은 부분적으로는 세포분열주기 중의 유사분열 이후 세포분열주기를 이탈하여 활동이 중지된 세포들



이 레이저의 자극으로 세포분열주기로 재진입한 결과 세포증식이 촉진된 것으로 생각된다.<sup>55,56,59,60)</sup> 한편, 세포증식율이 증가된 후, 다시 감소된 것은 레이저의 중복조사로 에너지의 밀도가 과도했던 결과로 인한 세포손상 때문으로 생각할 수 있다.

일반적으로 치아조직의 발생, 치유 및 재생과정에서는, 결합조직의 여러 세포들이 이동하여 증식하게 되며, 이 세포들은 이 과정에서 필요한 여러 가지 물질들을 분비한다.<sup>61)</sup> 이 부위로 이동·증식한 세포들 중 섬유모세포들은 결합조직을 치유·재생시키는데 필요한 세포의 기질을 분비한다. 이들 세포의 기질의 분비는 크게 두 단계로 나누어 이루어지게 되며, 먼저 무정형의 기질이 분비되고, 그 이후에 교원질과 같은 섬유성분이 분비, 침착하게 된다.<sup>62)</sup> 교원질의 합성 및 분비과정은 세포내의 폴리솜(polysome) 부위에서 개개의 아미노산이 연결되어 기다란 폴리펩티드 사슬을 형성하여 프로콜라겐의 고분자를 형성함으로써 이루어진다. 이 프로콜라겐은 과립형질내세망을 거쳐 세포의 골지복합체 부위로 이동하여 당화 과정을 통해 탄수화물 성분이 고분자에 첨가된다. 일단 당화된 프로콜라겐은 소포형태로 세포 표면으로 이동하여 분비된다.<sup>63)</sup>

본 실험의 투과전자현미경 소견에서, 4회 조사군에서 대조군에 비해 특별히 관찰되는 차이점은 사립체의 수가 증가되었고, 크기가 커졌다는 점이다. 또한 미세사 다발이 세포막 근처의 세포질 속에서 세포의 장축과 평행하게 관찰되었고, 세포돌기까지도 연장되어 있었다. 세포주위의 기질에는 많은 세섬유가 관찰되었으며, 이러한 결과는 레이저조사에 의해 세포증식이 촉진된 결과라고 생각되며, 이러한 결과는 He-Ne 레이저로 실험한 Pourreau-Schneider 등<sup>35)</sup>의 보고와 유사하였다. 레이저조사 후 사립체의 수가 증가되고 크기가 비대된 것은, 레이저의 자극에 의해 사립체 단백질의 합성이 증가되어 사립체 내외막 이동 추진력의 증가로 사립체의 기능활성이 강화되었기 때문인 것으로 생각된다.<sup>64-68)</sup>

Farquhar<sup>69)</sup>은 골지복합체는 분비물질의 압축, 농축 및 저장을 시작하는 역할을 하며 극성이 뚜렷한 세포에서는 골지복합체가 기능적으로 형질

내세망과 세포의 나머지 부분 사이의 중간부분에 위치한다고 보고 하였으며, 이를 근거로 본 연구의 결과는 레이저조사에 의해 세포 분비활동이 활성화되었다고 생각할 수 있다.

Sodek 등<sup>70)</sup>은 섬유모세포가 활성화되면 높은 교원질 합성능력을 가지며 새로 형성된 교원질 분자의 가장 효과적인 결합능력이 있다고 하였다.

본 연구의 레이저조사군의 전자현미경 관찰에서 섬유모세포의 핵은 크고 난원형이고 염색질이 섬세하고 핵소체가 뚜렷하며 전체적으로 얇게 염색되었다. 세포질에는 리보솜이 부착된 막으로 구성된 과립형질내세망이 풍부하게 발육되어 있었다. 세포질 주변의 과립형질내세망은 단백질분리로 특수화된 관형태의 소포로 분화되어 있었으며, 이는 Pfeiffer와 Rothman<sup>71)</sup>의 연구에서 과립형질내세망의 주기능은 세포 밖으로 분비될 단백질 또는 다른 세포소기관의 성분이 될 단백질을 세포의 다른 성분으로부터 분리해 주며, 당단백질의 초기 당질화, 인지질 합성, 단백질의 조립 및 새로 형성된 폴리펩티드의 변형과 같은 역할을 한다고 보고한 바 있다. 섬유모세포에는 세관과 미세사가 복합적으로 존재하고 있어 수축할 수 있는 능력이 있다. 또한 일반적으로 대부분의 미세사는 세포질에 흩어져 있어 조직화되지 않은 형태로 관찰되는 반면, 본 연구의 레이저조사군의 섬유모세포에서는 세포막 근처의 세포질 내에서 가는 미세사로 구성된 두꺼운 띠가 관찰되었다. Osborn과 Weber<sup>72)</sup>는 이러한 미세사는 세포내 이입, 세포의 유출, 미세음모의 수축 등 세포막과 관련된 기능 및 세포이동에 관여하며, 특히 세포의 분열과 세포의 수축에 관여한다고 주장하였다. 즉, 레이저조사는 세포의 이러한 능력을 촉진시키는 것으로 여겨진다.

본 연구의 주사전자현미경 소견에서 레이저 4회 조사군의 치수 섬유모세포는 대조군에 비해 불규칙적인 돌기형태를 하고 있는 모양이 관찰되었다. 세포막은 물질운반작용에 따라 끊임없이 움직이고 있으며 그 형태를 변화시키기도 하는데, 많은 미세음모를 가지고 심한 굴곡을 이루고 있는 형태의 세포막은 표면적이 넓어져 물질의 흡수나 호르몬 분비작용에 기여하고 있다. 이

러한 세포표면의 변화는 세포표면적을 넓게 할 뿐 아니라 세포와 세포의 결합력을 강하게 하는데 기여하는 것으로 생각된다.

한편 actin으로 구성된 미세사 다발은 세포운동, 형태형성 및 지지와 세포분열에 관여하며, 특히 최근에는 세포의 접착을 높이는 물질로서 알려져 있다. 더욱이 actin 섬유는 활발히 운동하고 있는 세포와 기질에서 늘어나고, 정지하고 있는 상태의 비교적 두꺼운 섬유를 가지고 있는 세포와는 actin 섬유의 수, 두께, 밀도, 주행에서 차이가 있어, 하나의 세포 내에서도 부위에 따라 분포양식이 다르게 나타났다. 본 실험의 대조군에서의 actin 섬유의 주행방향은 불규칙적이고 평면적으로 교차하고 그 수, 밀도도 적었다. 이에 비해 레이저조사군은 강한 형광을 발하고 주행은 규칙적으로, 장축방향과 평행하며 비교적 두꺼운 섬유가 배열되어 있었다. 그리고 그 직하부에는 서로 교차하는 섬유도 관찰되었다. 이렇게 세포내 분포의 차이를 보이는 결과로부터 두가지 움직임의 존재를 생각할 수 있다. 두꺼운 섬유의 직하에 존재하는 것으로 보이는, 교차하는 섬유는 기질에 대한 세포의 접착에 작용하며, 장축방향에 평행하게 주행하는 비교적 두꺼운 섬유는 세포의 외형 특히 형태 형성에 관여하는 것으로 생각된다. 따라서 레이저의 조사는 조기에 세포의 분화를 촉진하는 것으로 판명되었다.

이상을 종합하면, 치수에서 분리, 배양된 치수 섬유모세포에 파장이 904nm이며 35-40mm의 침투력을 가진 적외선 Ga-As 반도체 레이저를 조사한 경우, 세포의 증식이 촉진되었다. 그러나 본 연구는 시험관내 실험이므로 이 실험결과를 토대로 파장과 출력밀도가 다른 레이저의 실험도 진행되어 생체내 실험 및 임상에서 치수질환의 치유에 응용할 수 있는 방법들이 모색되어야 할 것이며, 또한 치아경조직과 연관된 치수조직에 대한 조직반응도 비교, 평가가 함께 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

본 연구는 레이저 시스템을 사용하여 배양된

사람 치수세포에 조사하여 레이저 조사의 최적 조건을 검토하고 세포의 증식효과와 형태변화를 관찰함으로써 레이저응용의 지식을 제공하여 레이저의 치과적 응용을 활성화하기 위하여 파장이 904nm이며 35-40mm의 침투력을 가진 적외선 Ga-As 반도체 레이저인 Dens-Bio Laser (Frequency: 5~10,000 Hz, Power 1-27mW, Model: SD-101A RCA, U.S.A.)를 배양세포에 조사한 후 colorimetric MTT assay를 이용하여 세포의 증식능을 측정하고, 전자현미경을 이용하여 세포의 미세구조적 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 치수 섬유모세포에 레이저조사시 1회에서 3회까지는 대조군에 비해 증식촉진효과가 없다가 4회 때에 유의성 있는 증식촉진효과를 보였으며, 5회 때에는 다시 증식율이 감소되었다.
2. 치수 섬유모세포는 치수 섬유모세포와 치주인대 섬유모세포에 비해 레이저의 세포증식의 감수성이 다르게 나타났다.
3. 투과전자현미경 관찰에서, 레이저조사에 의해 활성화된 치수세포는 교원질분비와 관련된 세포내 소기관과 사립체의 크기와 수가 증가되었고, 세포돌기가 연장되어 있었다.
4. 주사전자현미경 관찰에서, 레이저조사에 의해 활성화된 치수 섬유모세포는 불규칙적인 돌기 형태를 하고 많은 미세융모를 가지며 심한 굴곡을 이루고 있는 형태의 세포막을 볼 수 있었다.
5. 레이저조사에 의해 활성화된 치수 섬유모세포는 세포내의 actin 섬유가 치밀하며 세포의 가장자리에서 세포질이 끝나는 부분까지 섬유가 일정하게 연장되어 뻗어 있는 규칙적인 배열을 하고 있는 것을 관찰할 수 있었다.

이상과 같은 결과는 레이저조사에 의해 세포증식이 활성화되었고, 세포 표면적이 확장되어 물질의 운반작용이 왕성해졌으며, 세포의 단백질 합성, 분비기능 및 수축능력이 촉진된 것으로 생각된다.

## REFERENCES

1. Maiman, T.H.: Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*, 187:493-494, 1960.
2. McGuff, P.E., Detering, R.A., Gottlieb, L.S., et al.: Effects of laser radiation on tumor transplants. *Fed. Proc.*, 24:150-154, 1965.
3. Mester, E.: Stimulation of wound healing by means of laser rays (clinical and EM study). *Acta Chir. Acad. Sci. Hung.*, 14:347-354, 1973.
4. Pilikin, A.S., et al.: Effect of helium-neon laser radiation on the microcirculation of the oral mucosa. *Stomatolo- gia*, 63:12, 1984.
5. Hansen, H.J., and Thoteoe, U.: Low power laser biostimulation of chronic orofacial pain. A double-blind study. *Pain*, 43:169-179, 1990.
6. Kubasova, T., Kovacs, L., Somasy, 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.
7. Bosatra, M., Jucci, A., 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.
8. Olson, J.E., Schimmerling, W., and Tobias, C.A.: Laser action spectrum of reduced excitability in nerve cells. *Brain Res.*, 204:436, 1981.
9. Lam, T.S., Abergel, R.P., and Dwyer, R.M.: Biological effects of laser: Stimulation of collagen production of low energy lasers in human fibroblasts cultures. *J. Am. Soc. Laser Med. Surg.*, 3:189, 1983.
10. Albergel, R.P., Lam, T.S., Meeker, C.A., et al.: Biostimulation of procollagen production by low energy lasers in human skin fibroblast culture. *Clin. Res.*, 32:567, 1984.
11. Goldman, L.: Laser action at the cellular level. *J. Am. Med. Assoc.*, 198:641, 1966.
12. Dyson, M., and Young, S.: Effect of laser therapy on wound contraction and cellularity in mice. *Lasers in medical science*, 1:125-130, 1986.
13. Mester, E., Spirty, T., Szende, B., and Jolan, G.: Effect of laser ray on wound healing. *Am. J. Surg.*, 122:532-535, 1971.
14. Palmieri, B., and Vecchiati, E.A.: Experimental study on wound healing in the rat. *Medical Laser Report*, Edizioni Sepi, 2:6-8, 1985.
15. Kana, J.S., Hutchenreiter, G., Haina, D., and Weidlich, W.: Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch. Surg.*, 116:293-296, 1981.
16. Nissan, M., Rochkind, S., Razon, N., and Bartal, A.: He-Ne laser irradiation delivered transcutaneously: Its effect on the sciatic nerve of rats. *Lasers in surgery and medicine*, 6:435-438, 1986.
17. Rochkind, S., Nissan, M., Barr-Nea, L., Razon, N., Schwarz, M., and Batal, A.: Response of peripheral nerve to He-Ne laser: Experimental study. *Lasers in surgery and medicine*, 7:441-443, 1987.
18. White, R.A., Kopchok, G., Donayre, C., and Lyons, R.: Large vessel sealing with the argon laser. *Lasers in surgery and medicine*, 7:229-235, 1987.
19. Godlewski, G., Rouy, S., and Dautat, M.: Ultrastructural study of arterial wall repair after argon laser microanastomosis. *Lasers in surgery and medicine*, 7:258-262, 1987.
20. Hansson, T.L.: Infrared laser in the treatment of cranio- mandibular disorders, arthrogenous pain. *J. Prosthet. Dent.*, 61:614-616, 1989.
21. Walker, J.: Relief from chronic pain by low power laser irradiation. *Neuroscience letters*, 43:339-344, 1983.
22. Zakariasen, K.L., and Dederich, D.N.: Lasers in dentistry. "Star wars" Dreaming or a future reality? *J. Dent. Res.*, 54:27-31, 1988.
23. Bassleer, C., Dachy, M., Reginster, J.Y., Gysen, P., Bassleer, R., and Franchiomont, P.: Human articular chondrocytes cultivated in the three dimensions: Effects of I. R. laser irradiation. *Int. Cong. on Lasers in Med. and Surg.*, 381-385, 1985.
24. Balboni, G.C., Brandi, M.L., Zonfrati, R., and Repice, F.: Effect of laser irradiation on two human fibroblast in vitro. *Int. Cong. on Lasers in Med. and Surg.*, 101-103, 1985.
25. Tocco, G., De Kaouel, L.B., and Auber, C.: Helium-neon and infrared mid-laser influence on skin cell in vitro: preliminary results. *Int. Cong. on Lasers in Med. and Surg.*, 175-182, 1985.
26. Lam, T.S., Abergel, R.P., Castel, J.C., Dwyer, R.M., and Uitto, J.: Effect of laser on the biology of human skin fibroblasts. *Min. Reflessoter Laserter.*, 2:89-98, 1985.

27. Mester, E., Mester, A.F., and Mester, A.: The biomedical effects of laser application. *Lasers in surgery and medicine*, 5:31-39, 1985.
28. Clover, G.B., and Priestley, G.C.: Failure of a helium-neon laser to affect components of wound healing in vitro. *Brit. J. Dermatol.*, 121:179, 1989.
29. Mester, E., Nagylucskay, E., Tisza, S., and Mester, A.: Stimulation of wound healing by means of laser rays-Investigation of the effect of immune competent cells. *Acta. Chir. Acad. Sci.*, 19:163, 1978.
30. Hunter, J., Leonard, L., Wilson, R., et al.: Effects of low energy laser on wound healing in a porcine model. *Laser Surg. Med.*, 3:285, 1984.
31. Re, F., and Viterbo, S.: Amalisi delo degli effetti biologici dei soft laser, *Menerva Stomatol.*, 34:357, 1985.
32. Re, F., and Viterbo, S.: Indicazionki selluso della soft laser terapia in odontostomatologia. *Menerva Stomatol.*, 34:563, 1985.
33. Pourreau-Schneider, N., Soudry, M., Remusat, M., Franquin, J.C., and Martin, P.M.: Modifications of growth dynamics and ultrastructure after helium-neon laser treatment of human gingival fibroblasts. *Quintessence*, 20:887, 1989.
34. Thesleff, I., Partanen, A.-M., and Vainio, S.: Epithelial-mesenchymal interactions in tooth morphogenesis: The roles of extracellular matrix, growth factors and cell surface receptors. *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.*, 11:229-237, 1991.
35. Thesleff, I., Vaahtokari, A., Kettunen, P., and Aberg, T.: Epithelial-mesenchymal signalling during tooth development. *Proceedings of the Vth international conference on tooth morphogenesis and differentiation*, *Connect. Tissue Res.*, 32(1), 1995.
36. Torneck, C.D., and Wagner, D.: The effect of a calcium hydroxide liner on early cell division in the pulp subsequent to cavity preparation and restoration. *J. Endocrinol.*, 6:719-723, 1980.
37. Ruch, J.V.: Tooth morphogenesis and differentiation. In: *Dentin and dentinogenesis*. Linde, A., editor. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 447-479, 1990.
38. Veis, A., Tsay, T.-G., and Kanwar, Y.: An immunological study of the localization of dentin phosphophoryns in the tooth. *INSERM*, 125:223-232, 1984.
39. Fitzgerald, M.: Cellular mechanics of dental bridge repair using <sup>3</sup>H-thymidine. *J. Dent. Res.*, 58:2198-2206, 1979.
40. Fitzgerald, M., Chiego, D.J., and Heys, D.R.: Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. *Arch. Oral Biol.*, 35:707-715, 1990.
41. Yamamura, T., Shimono, M., Koike, H., Terao, M., Tanaka, Y., Sakai, Y., et al.: Differentiation and induction of undifferentiated mesenchymal cells in tooth and periodontal tissue during wound healing and regeneration. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, 21:181-222, 1980.
42. Belkin, M., and Schwarz, M.: New biological phenomena associated with laser radiation. *Health Phys.*, 56:687-690, 1986.
43. Brunner, R., Haina, D., Landthaler, M., Aidlich, W., and Braun-Falco, O.: Application of laser light of low-power density. *Experimental and clinical investigations*. *Curr. Probl. Dermatol.*, 15:111-116, 1986.
44. Lyons, R.F., Abergel, R.P., White, R.A., Dwyer, R.M., Castel, J.C., and Uitto, J.: Biostimulation of wound healing in vivo by He-Ne laser. *Ann. Plast. Surg.*, 18:47-50, 1987.
45. 森岡俊夫, 田籠祥子: レーザの歯科應用の歴史. レーザの歯科への臨床應用とその基礎. クインテッセンス出版株式会社, 東京, 1988.
46. Kert, J., and Rose, L.: Clinical laser therapy - Low level laser therapy. *Scand. Med. Laser Technol.*, Copenhagen Co., Copenhagen, 1989.
47. Carroll, J.M.: *The story of the laser*. E.P. Dutton & Co., Inc., New York, 1970.
48. 송강철: 응용 레이저가이드 실예와 기초. 기전연구소, 서울, 1985.
49. 오명, 강문호: 레이저의 응용. 청문각, 서울, 1987.
50. 김덕원: 의료용 레이저. 한국광학회지, 1:107, 1990.
51. 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.
52. Adrian, J.C., Bernier, J.L., and Sprague, W.G.: Laser and the dental pulp. *J. Am. Dent. Assoc.*, 83:113, 1971.
53. Jarvis, D., Maciver, M.B., and Tanelian, D.L.: Electrophysiologic recording and thermodynamic modeling demonstrate that helium-neon laser

- irradiation does not affect peripheral A $\delta$ - or C-fiber nociceptors. *Pain*, 43:235-242, 1990.
54. Pardee, A.B.: A restriction point for control of normal animal cell proliferation. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 71:1286, 1974.
  55. 서울대학교 의과대학: 세포생물학, 제2판. 서울대학교 출판부, 서울, 1991.
  56. Braunwald, E., Isselbacher, K.J., Petersdorf, R.G., Wilens, J.D., Martin, J.B., and Fauci, A.S. (ed): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 11th ed., p432, McGraw-Hill Book Co., New York, 1987.
  57. Lajtha, L.G.: Differential sensitivity of the cell life cycle. *J. Cell Comp. Physical.*, 62(suppl):141, 1963.
  58. Burns, F.J., and Tannock, I.F.: On the existence of a G<sub>0</sub> phase in the cell cycle. *Cell Tissue Kinet.*, 3:321, 1970.
  59. Baserga, R.L.: Cell division and the cell cycle in Finch, C.E., and Hayflick, L. (eds): *Handbook of the Biology of Aging*. Van Nostrand Reinhold, New York, 1977.
  60. Mendelsohn, M.L.: The growth fraction - A new concept applied to tumors. *Science*, 132:1496, 1960.
  61. Ross, R.: The fibroblasts and wound repair. *Biol. Rev.*, 43:51-96, 1968.
  62. Bentley, J.P.: Rate of chondroitin sulfate formation in wound healing. *Ann. Surg.*, 165:186-191, 1966.
  63. Butler, W.T.: Dentin matrix proteins and dentinogenesis. *Proceedings of the Vth international conference on tooth morphogenesis and differentiation*. May 4-8, 1994. Kerkrade, The Netherlands. Woltgens, J.H.M., Bronckers, A.L.J.J., Lyaruu, D.M., editors. *Connect. Tissue Res.*, 32(1), 1995.
  64. 채범석 역: 레닌저 생화학. 아카데미서적, 서울, 1987.
  65. Albert, B., Bray, D., Vewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Watson, J.D.: *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing Inc., New York, 1983.
  66. Hinkle, P.C., and McCarty, R.E.: How cells make ATP. *Sci. Am.*, 283(3):103, 1978.
  67. Stryer, L.: *Biochemistry*, 3rd ed. W.H. Freeman Co., New York, 1988.
  68. Zubay, G.: *Biochemistry*, 2nd ed. McMillan Publishing Co., New York, 1988.
  69. Farquhar, M.G.: Progress in unlaveling pathways of Golgi traffic. *Annu.Rev.Cell Biol.*, 1:447,1985.
  70. Sodek, J. and Berkman, F.A.: Bone cell cultures. In: *Methods in Enzymology*. Academic Press, 145:303-324, 1987
  71. Pfeffer, S.R and Rothman, J.E.: Biosynthetic protein transport and sorting in the endoplasmic reticulum. *Annu. Rev.Biochem.*, 56:829, 1987.
  72. Osborn, M. and Weber, K.: Intermediate filaments: Cell-type-specific markers in differentiation and pathology. *Cell*, 31: 303, 1982.

## THE EFFECTS OF DENTAL LASER ON PULP FIBROBLAST IN VITRO

Hye-Jeon Jeong • Byung-Soon Min

*Dept. of Conservative Dentistry, Division of Dentistry, Graduate School, Kyung Hee University*

The responses of human pulp fibroblastic cells to Ga-As Semi-Conductor-Dens-Bio Laser (Frequency: 5 Hz~10,000 Hz Model: SD-101A RCA, U.S.A.) were examined in vitro using pulp fibroblastic cells obtained from the pulp tissue of human tooth. The mitogenic effect of soft laser was assessed by measuring the MTT assay. The morphologic effect for soft laser showed under the scanning and transmission electron microscopy.

The results as follows:

1. The mitogenic response of the soft laser was not observed until 4th time of radiation, while the mitogenic response at 4th time increased mitogenic effect by as much as 1.7 fold compared to the control value.
2. The mitogenic response of the soft laser on pulp fibroblast differ from the mitogenic response on other fibroblasts.
3. In scanning electron microscopic study, The microvilli of cell surface increased gradually with width and length after laser radiation, it demonstrate that development of microvilli have close connection with differentiation of cells.
4. Under the transmission electron microscope, The laser-treated cells maintained their elongated shape and a high degree of cellular polarization. The large cell body containing a well developed Golgi complex, a large number of profiles of rough endoplasmic reticulum, and great numbers of mitochondria.
5. The laser-treated cells maintained the long straight bundles of closely apposed microfilaments or individual filaments forming a cross-linked network.

These findings suggest that the laser may have important roles in promotion of pulp healing and consequently may be useful for clinical application in pulp regenerative procedures.

## EXPLANATION OF FIGURES

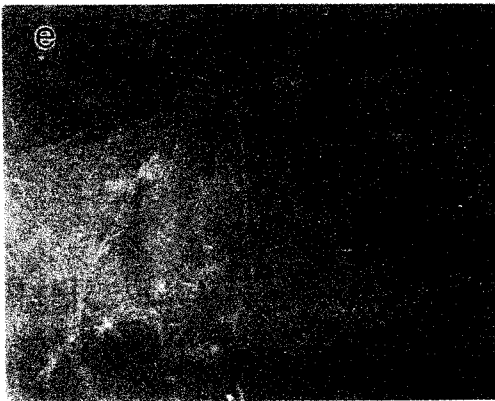
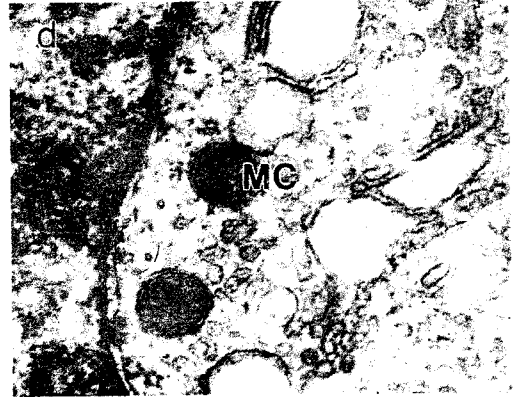
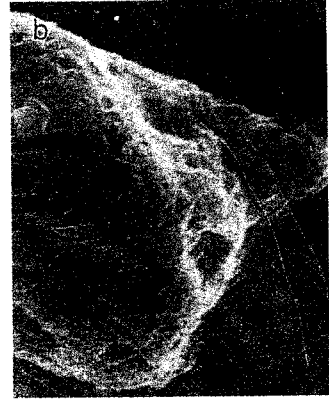
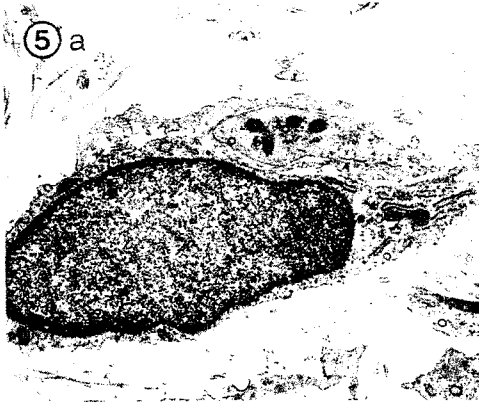
**Fig. 5.** The pulp fibroblast of the control group.

- a :The cell is smaller than the experimental cell, tends to be spindle- shaped. It has fewer processes. (TEM, X 8,000)
- b:The fibroblast maintained thin elongated shape with a process. (SEM, X 4,000)
- c:The cytoplasm is poor in rough endoplasmic reticulum, and the Golgi complex is not well developed. (TEM, X 40,000)
- d:The fibroblast contain a few numbers of mitochondria which tend to be near the nucleus. (TEM, X 40,000)
- e:The fibroblast contain a few numbers of actin filament in cytoplasm. (Cytochemical fluorescent staining, X 400)
- f:The fibroblast shows irregular arrangement of actin filament along the cytoplasmic process. (Cytochemical fluorescent staining, X 400)

**Fig. 6.** The laser-treated pulp fibroblast.

- a :The nucleus is at one end, the processes at the other end, and a large cell body containing a well developed rough endoplasmic reticulum between them. (TEM, X 8,000)
- b:The cell has several processes on the surface of cell body containing a well developed microvilli. (SEM, X 4,000)
- c:A large number of profiles of rough endoplasmic reticulum are located at the periphery of the cells. A thin bundle of microfilaments is located in cytoplasm. (TEM, X 40,000)
- d:The mitochondria have many shelflike cristae in their interiors. Filling the matrix space is a fine granular material of variable electron density. (TEM, X 60,000)
- e:The fibroblast shows more dense and regular arrangement of actin filament. (Cytochemical fluorescent staining, X 400)
- f:The fibroblast shows more distinct actin filament along the cytoplasmic process. (Cytochemical fluorescent staining, X 400)

논문사진부도 ①





논문사진부도 ②

