

GaAlAs 레이저 조사가 흰쥐 창상부위 상피조직의 EGF 발현에 미치는 영향

대구대학교 재활과학대학원 물리치료전공
김 동 현 · 백 수 정

경북과학대학 작업치료과
배 주 한

대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료전공
김 석 범

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과 신경재생실
권 영 실

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과
김 진 상

The Effect of GaAlAs Laser Irradiation on EGF Expression in Epidermal Tissue of Rats Induced by Wound

Kim, Dong-Hyun, P.T. · Baek, Su-Jeong, P.T., M.S.

Major in Physical Therapy, Graduate School of Rehabilitation Science, Taegu University

Bae, Ju-Han, P.T., M.P.H.

Department of Occupational Therapy, Kyongbuk college of science

Kim, Suk-Bum, P.T.

Major in Physical Therapy, Department of Rehabilitation Science, Graduate School, Taegu University

Kwon, Young-Shil, P.T., Ph.D.

Lab. of Nerve regeneration, Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation, Taegu University

Kim, Jin-Sang, D.V.M., Ph.D.

Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Taegu University

<Abstract>

This study was performed, using EGF, to observated the effect of GaAlAs laser on wound model induced designedly in lumbar region.

The results of this study were as following:

1. In expression of EGF which used marker of wound healing, laser irradiating group made EGF to more induce significantly than laser non-irradiating group at 3 days.
2. EGF immunoreactivity in epidermis were increased markedly 3 days after wound, and increased gradually from 1 day to 2 days in wound which is laser irradiation.

Therefore, EGF immunoreactivity which increased after wound with GaAlAs laser irradiation indicate that GaAlAs laser have wound healing effect. This study also can become a part of scientific evidence on electrotherapy through measuring quantitively effects of GaAlAs laser in wound

* 본 논문은 2001년도 두뇌한국21 사업에 의해 지원되었음

I. 서론

피부는 인체의 표면을 세균이나 감염성 물질로부터 보호하고, 온도와 감각 기능 등을 조절하는 중요한 역할을 담당한다. 따라서 외부와 경계부에 위치하는 피부는 계속적인 외부 자극이나 물리적, 기계적 자극으로 인해 쉽게 손상 받을 수 있다(김식현과 전진석, 2000). 상처의 생성은 인류가 활동 하는 동안 가장 빈번하게 일어나는 작으면서도 큰 사건이다. 상처라는 생물학적 무질서는 생명체가 지니는 정돈의 속성에 의해서 치유나 회복의 과정으로 마무리 되는 것으로서, 현재 과학기술의 발달과 더불어 생물학적 실험기법의 발달로 회복기간 중 일련의 과정들이 쉽게 이해되고 있다(Bennett와 Schultz, 1993). 성인 피부상처의 회복과정은 많은 다른 조직의 협동된 노력과 세포의 연속성을 필요로 하는 복합적 과정이다. 증식(proliferation), 이주(migration), 기질의 합성(matrix synthesis), 그리고 수축(contraction)의 시기에 공헌한 여러 세포들 각각의 행동과 함께 상처 입은 자리에 존재하는 성장인자와 기질로부터의 신호들이 최근 알려지고 있다(정문진, 2000).

성장인자(growth factor)는 크게 두 가지로 나뉜다. 하나는 혈소판 유래 성장인자(Platelet driven growth factor: PDGF)나 상피세포성장인자(epidermal growth factor: EGF)와 같은 여러 가지 종류의 세포에 작용하는 광의적 특이성 인자(broad specificity factor)와 또 하나는 신경세포 성장인자와 같이 특정 세포에만 작용하는 협의적 특이성 성장인자(narrow specificity factor)가 그것이다(최기섭 등, 2000).

조직의 손상으로 혈소판에서는 여러 성장인자들이 유리된다. 여기에 포함되는 것으로 PDGF, TGF- β , EGF, IGF-1이 있다. 혈소판에서 유리된 이들 성장인자들과 대식세포 및 섬유모세포와 같은 상처세포들에 의해 상처 치유가 시작된다(Chegini 등, 1994). 성장인자들은 치유를 위해 혈소판, 염증세포, 섬유모세포, 내피세포들의 조직 회복을 포함하는 다양한 종류의 세포들에 의해 합성되고 분비되어 상처 세포들로 하여금 주화성 활동을 가지게 한다(Bennett와 Schultz, 1993a). 또한, 성장인자들은 특정세포 종류에 더 친화성을 보이는 선택성이 있다. TGF- β 는 사람의 말초 혈액 단백질에 대한 주화성 요소이고, 혈소판유래성장인자는 섬유모세포에 대해 주화성을 가지고, bFGF와 IGF-1는 혈관 내피세포에 대해서, 상피세포성장인자는 상피세포에 대해서 주화성을

가진다(Bennett와 Schultz, 1993b; Samuel 등, 1987). 즉, 상피세포성장인자는 상피세포와 섬유모세포의 증식을 유도한다.

상피세포성장인자(이하 EGF)는 1969년 Cohen에 의해 쥐의 악하선(submaxillary gland)에서 분리(isolation)되었으며(Fisher와 Lakshmanan, 1990), EGF의 구조는 1972년에 Taylor와 Cohen에 의해 밝혀졌다. Cohen은 신경성장인자를 함유하는 화학 추출물에서 또다른 세포성장인자를 발견했는데, 이 물질이 갓 태어난 쥐의 눈을 뜨게 할 뿐만 아니라 정상보다 치아(tooth)를 며칠 더 빨리 내게 한다는 것을 밝혔다. Cohen은 이 물질의 이름을 EGF라고 명명하고 정제해 내는데 성공하였으며, 그 화학적 성질을 완전하게 분석했다. Cohen과 동료들은 EGF가 신체발달에 광범위하게 영향을 미친다는 것을 발견했다. 또한 그들은 EGF가 각각의 세포 내부로 유입되고 작용하는 기전도 밝혀냈다.

EGF는 수 많은 발달적 사건에 포함되는데, 혈소판과 피부의 분화, 모낭(hair follicles)의 성장, 눈을 열게 하고, 치아(tooth)의 출현(eruption), 폐 성장, 장(gut)과 간(liver)의 성장, 신경원의 분화에 관여한다(Fisher와 Lakshmanan, 1990; Paul 등, 1989).

발견 초기 EGF에 대한 연구는 상피의 증식에 대한 효과와 위산 분비에 대한 억제효과에 대한 것이었다(Carpenter와 Cohen, 1990). 최근에는 많은 동물 실험에서 EGF 치료가 다양한 상처의 치유를 강화시킴을 보여주고 있다(Brown 등, 1986; Schultz 등, 1991). 임상에서도 EGF가 피부상처의 상피 재생을 촉진시키고(Brown 등, 1989), 만성 상처의 치유를 촉진시킴을 보였다(Brown 등, 1991).

EGF는 상피세포의 분열과 이동을 자극함으로써, Fibronectin(세포의 부착과 이동을 도와줌)과 같은 단백질의 합성을 직접적으로 증가시켜 상처 치유를 촉진한다(Nishida 등, 1984). EGF는 콜라겐과 같은 세포외기질 단백질에 대한 mRNA 합성을 유발시키지는 못한다 하더라도, 주화성과 유사분열을 통해 상처부위에 더 많은 수의 섬유모세포를 증가시킨다. 따라서 결과적으로 더 많은 콜라겐이 생산되는 것이다(Bennett와 Schultz, 1993).

물리치료에 사용되는 의료기기 중 하나인 레이저는 시간이 지남에 따라 그 중요성이 강조되어지고 있다. 1960년대 이전까지는 의학분야에서 레이저를 이용하지 않았고, 의료용으로 사용하기 시작한 것은 1975년부터였으며, 이때 미국에서는 외과용으로 레이저를 이용하기

시작하였으며, 유럽 여러 나라에서는 그 후 2, 3년 후 치료용으로 임상실험을 실시하였다(강홍순, 1991; Galletti, 1997; Tong 등, 2000).

레이저(LASER)란 Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation(유도방출에 의한 증폭된 빛)의 약자이며, 치료용 레이저로 개발된 것은 적외선 레이저(Infrared LASER)와 헬륨-네온 레이저(He-Ne LASER), Asga LASER, Rubin LASER, GaAlAs(Gallium aluminum arsenide) 반도체 다이오드 레이저, CO₂ 레이저, 아르곤 레이저 등이 있다(강홍순, 1991).

창상치유에 레이저를 사용하게 된 것은 Mester 등이 1971년도에 레이저를 사용하여 생쥐의 피부창상 치유를 촉진할 수 있음을 실험을 통하여 밝힘으로서 시작되었고 그 이후 레이저가 창상치유 부분에 있어 DNA와 콜라겐 및 단백질 합성능력 증가, ATPase 등의 효소 활성 증진, 육아조직 형성 촉진, 세포분열 및 상피화 촉진, 혈관신생, 혈류량 증진 등의 연속적인 효과가 있음을 알 수 있었으며, 이러한 근거로 창상치유에 널리 사용되게 되었다(송인영과 이재형, 1997; 김석현 등, 1994; Rochkind 등, 1988).

이에 본 연구에서는 레이저 적용이 창상치유에 미치는 영향을 알아보기 위해 창상치유의 지표가 될 수 있는 인자 중 하나인 EGF의 발현을 관찰함으로써, 창상에 대한 레이저의 적용에 있어 회복과정의 과학적 증거를 제시하고자 한다.

Ⅱ. 실험방법

1. 실험동물

실험동물은 생후 7~8주, 체중 250~300g의 성숙한 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 이용하였으며, 예비실험을 적용하여 미리 허약하거나 피부의 손상을 가진 쥐는 대상에서 제외시켰다. 실험군은 창상유발 후 치료용 레이저를 적용한 군으로 1일적용군, 2일적용군, 3일적용군, 4일적용군 등 4개군으로 세분하였다. 대조군은 피부창상유발 후 치료용 레이저를 적용하지 않은 군으로 하였으며, 조직의 형태를 갖추기 시작한 3일군으로 하였다. 각군은 모두 2마리로 구성되었으며 총 10마리의 쥐가 이용되었다. 식수는 수돗물, 사료는 실험동물(쥐)용

사료(삼양유지사료주식회사)를 무제한으로 공급하였다. 쥐를 사육한 상자는 일반 실험실 쥐사육용 상자(290×430×180mm)를 이용하였고, 각 상자당 2~3마리씩 넣어 두었다. 사육실의 온도와 습도는 최적의 상태인 23±2°C와 50±2%를 유지시켰고, 광주기와 암주기는 각각 12시간씩으로 적용하였다.

2. 실험방법

1) 실험전 처치

럼폰과 케타민(1:1비율)을 흰쥐 복강내 주입(0.6ml)하여 마취를 시킨 후, 요추부 등쪽부위를 삭모하였고 외과용 가위(surgical scissors)를 이용하여 삭모된 요추부 등쪽부위의 피부를 가로, 세로 각각 12mm로 절개하였다. 감염을 예방하기 위해서 대조군은 절개 후 곧바로 피부를 소독하였고 실험군은 레이저조사를 실시한 후 소독을 하였다.

2) 레이저 적용

이 실험에 이용한 레이저는 저에너지 레이저(low-energy laser)의 한 종류인 GaAlAs 반도체 다이오드 레이저이며, 제품명은 LASER BIOSTIMULATION (HANIL M.E CO., LTD)이다. 주파수는 1000Hz, 파장은 830nm, 강도는 10mW, 1회 치료시간은 10분, 치료횟수는 1일 1회로 정하여 4일간 레이저를 조사하였다.

실험군의 조직은 레이저 조사 후 즉시 심장관류(0.9% NaCl)를 실시하여 조직 전고정(8% paraformaldehyde, pH 7.2-7.4)을 하였고 등쪽 요추부위 피부를 절취하여 면역조직화학검사를 위해 두시간 동안 후고정(8% paraformaldehyde)하였으며, 수크로스(25% sucrose)에 하루동안 냉장보관하였다. 대조군은 레이저 조사는 하지 않았고 위와같은 실험과정을 실시하였다.

3) 조직절편 제작

후고정을 끝낸 후 피부조직은 단계별 탈수(dehydration)과정을 거친 다음, 청명(cleaning)과정을 자일렌(Xylene)을 통하여 실시하였고, 파라핀 포매(paraffinembedding)를 하였다. 이렇게 제작된 조직절편은 미세절단기(microtome, BRIGHT 5040)를 이용하여 15μm로 잘라서 슬라이드를 제작하였으며, 건조기에 24시간을 건조시켰다.

4) 면역조직화학법

피부조직 절편을 탈파라핀과 함수(hydration)과정을 거친 다음 3차 정류수와 0.01M PB(phosphate buffer)에 각각 10분 3회 수세를 하였다. 그리고, 1차 항체(mouse) EGF(희석률 100% Anti-EGF, sigma)를 실온 24시간 처리하였다. 0.01M PB에 10분 3회 수세를 실시하고, 2차 항체(goat anti-mouse IgG, 1:25, sigma)를 실온 90분 처리하였다. 다시 0.01M PB로 10분 3회 수세를 실시하고 3차로 streptavidine에 실온 30분간 처리하였다. 그 후 0.01M PB로 10분 3회 수세를 실시하고 ABC(avidine-biotin peroxidase complex)를 실온에서 30분간 처리하였다. 이렇게 처리한 조직을 다시 0.01M PB 10분 3회 수세를 하고 여과된 DAB(3'5'-diaminobenzidine)에 10분간 처리하였으며, 이후 Wasserstoffperoxid 30% H2O2(Perhydrol)를 0.03%(60 μ l/200ml)로 처리하였다. 다음 0.01M PB와 3차 정류수에 각각 10분 3회를 수세하였고, cresyl violet acetate를 이용한 대조염색(counterstaining)을 하였으며, 탈수(dehydration)과정과 마지막으로 PMM(permanent mounting media)을 이용하여 cover glass로 봉입하는 mounting 과정을 실시하였다.

5) 결과처리

첫째, 창상유발 후 3일의 대조군과 실험군의 요수부 창상부위의 상피조직에서 발현된 EGF의 발현 양상을 매우 높음 +++, 높음 ++, 보통 +, 없음 0로 나타내었다.

둘째, 창상유발 후 1일, 2일, 3일, 4일 실험군의 상피조직에서 발현된 EGF의 발현 양상을 매우 높음 +++,

높음 ++, 보통 +, 없음 0로 나타내었다.

Ⅲ. 결 과

1. 면역조직화학법적 소견

1) 창상 3일 후 EGF의 발현 비교

완전한 상피조직을 갖추기 시작한 3일군에서 레이저 조사군과 비조사군을 비교하여 보았을 때 레이저 조사군의 바닥층과 진피의 전 영역의 염증세포에서 EGF의 광범위한 면역조직화학반응 관찰하였다. 그리고 각질층과 가시층 사이에도 소량의 EGF 면역조직화학반응이 관찰되었다. 그러나, 비조사군에서는 외부와 경계를 이루는 각질층과 표피와 진피 경계부위에 약간의 EGF 면역조직화학반응이 관찰되었다(Table I, Fig. I a,b, Fig. II a,b).

2) 창상유발 후 실험군의 시간대별 EGF의 발현 변화

1일 후에는 소량의 염증세포에서 EGF의 면역조직화학반응이 관찰되지만 형태학적으로 완전한 상피골격을 구성하지 못하고 있는 상태를 보이고, 2일 후부터는 결합력이 약하지만 형태학적으로 상피조직을 형성되어가는 진행과정을 보이며, EGF의 면역조직화학반응도 역시 1일 후와 비슷하게 관찰되었다. 레이저 조사 3일 후 완전한 상피조직을 형성하고 있음을 보였고 표피와 진피 경계부위와 진피의 모든 영역에서 EGF의 면역조직화학반응이 관찰되었다. 이러한 결과로 창상이 일어난 초기부터 레이저를 조사할 경우, EGF가 출현한다는 것을 알 수 있었고 1일, 2일, 4일 후보다는 3일 후에 가장 많은 EGF의 발현을 볼 수 있었다(Table I, Fig. III a,b,c,d)

Table I . Changes of EGF expression after wound

	Control	Experimental			
	3 days	1 day	2 days	3 days	4 days
EGF expression	+	++	++	+++	+++

*Control : Group of wound which is not with Laser irradiation

*Experimental : Group of wound which is with Laser irradiation

Ⅳ. 고 찰

피부는 외부 세계에 대한 보호적 경계선이기 때문에

어떤 파괴가 있을 때 빠르고 효과적으로 복구되어야만 한다(Paul, 1997). 이러한 복구에 있어 여러성장인자 중 EGF는 상피세포에만 주화성을 가지고 있으므로 다

른 성장인자들과 구분이 되며, 창상을 입은 피부에 선택적으로 관찰이 가능하다(Bennett와 Schultz, 1993).

EGF는 53개의 아미노산으로 구성된 6kDa의 단백질이고(Hong 등, 2001), 하악선(submaxillary gland), 눈액선(lacrimal gland), 신장(kidney), 갑상선(thyroid gland), 췌장(pancreas)등 몇몇 조직으로부터 분비되어지며(Imanishi 등, 2000), 혈소판, 염증세포, 섬유모세포, 상피세포, 내피세포들의 조직 회복을 포함하는 다양한 종류의 세포들에 의해 합성된다(Bennett와 Schultz, 1993) EGF를 포함한 펩티드 성장인자들은 정지세포(quiescent cell)의 계속적인 유사분열을 자극하는 능력 때문에 발견되었다. 펩티드 성장인자는 필수적인 요소인 조인자(cofactors), 영양인자(nutrients)와는 다르다. 이들 인자는 대사과정에 필요하지만, 세포분열을 개시하지는 못한다. 그리고 영양인자와 성장인자는 유사분열에 필수적이지만, 성장인자만이 정지세포의 유사분열을 개시할 수 있다(Bennett와 Schultz, 1993). 이들 성장인자는 수용기와 결합하여 수용체를 활성화시키고 이것은 신호전달되어 특정 유전자 발현을 조절하고 마지막으로 단백질을 합성하게 된다.

Fukasawa 등(1989)은 인체의 근막이나 복막의 창상 후 EGF는 7일에서 가장 많은 발현을 보였다고 하였고, Fukasawa 등(1987)은 창상 후 2일, 7일, 10일 후보다는 5일 후에서 EGF가 가장 유의하게 발현되었다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 1일 후부터 서서히 증가하여 3일 이후 가장 많은 발현을 보였다. EGF는 상처회복의 초기단계인 염증기에 많이 유리되는 물질이고 실험대상인 실험쥐는 인간과 그 염증기의 시기에 차이가 있겠지만 그래도 야생성이 있는 실험쥐의 회복율이 인체보다는 높고, 또한 레이저의 조사가 발현의 시기를 앞당긴 것으로 간주할 수 있을 것이다.

일반적으로 상피에 손상을 당하면 그곳에는 일정기간 동안 EGF가 많이 모여있는 것을 발견할 수 있고, 역으로 인체내에서 생성되는 EGF를 배양하여 상처부위에 투여하였을 때 회복율이 매우 높아지는 것을 관찰할 수 있다. 그러나, 현재 임상에서는 인체 내에 있는 EGF 발현을 유발·촉진시키려는 시도 보다는, 직접 투여하여 치료 효과를 관찰하는 연구가 많다.(Wang 등, 1996; Brown 등, 1986; Nanney, 1990). 그 중에서도 Wingren 등(1992)이 시행한 인체 결합조직의 창상치유 촉진에 관한 연구는 본 실험과 EGF의 기능면에 있어 효과는 비슷하게 나타났지만, Wingren 등(1992)의 실험

은 외부에서 EGF를 투여하였고 본 실험은 레이저를 이용하여 생체 내 발생을 촉진시켰다는 점에서 두 실험이 위에서 언급한 내용의 좋은 예가 될 수 있을 것이다. 그리고 Brown 등(1991)이 보여준 EGF 투여기간에 따른 창상치유효과에 관한 연구에서는 투여 1일 후 25-50%의 치유효과를 거두었고, 1.5일 후에는 75-100%의 치유효과를 보고하였다. 본 실험에서는 3일 후 가장 높은 효과를 보였다. 이것은 EGF를 직접적으로 투여하는 것과 레이저를 이용하여 발현시키는 것과 큰 차이가 없음을 보이는 증거가 된다.

이러한 실험결과들은 중요한 개념을 시사한다. 첫째, 자발적인 회복율은 최대로 이루어지는 것이 아니다. 즉, 자발적인 상처 치유의 분자적 환경은 펩티드 성장요소의 최고 수준이 아닐 수도 있다는 것이다. 둘째, 이러한 연구에서 상피 재생의 촉진은 대조군보다 20-30% 더 빠르다. 작은 상처의 경우, 치유 시 이러한 증가의 임상적 중요성은 소홀히 취급되어 왔고 큰 상처의 경우, 약 30% 정도의 상피 재생을 증가에도 임상적으로 잇점을 가질 수 있다(Bennett와 Schultz, 1993). 그러나 배양된 EGF는 매우 고가이므로 일반인들이 이용하기에는 많은 경제적 부담을 느낄 수 있다. 또한 외부에서 EGF를 인체 내로 주입하여 효과를 얻는 것도 염증기에는 중요할 수 있지만, 외부의 어떠한 치료적 자극으로 인체 내에 생리반응을 유발하여 스스로 많이 생산하게 만들 수 있다면 이것이 보다 이로울 것이다. 그런 의미에서 레이저의 쉬운 조작법과 성장인자의 발현에 있어 탁월한 기능은 이런 역할을 수행하는데 적합하다 하겠다(Kameya 등, 1995; Kami 등, 1985).

레이저의 치료적 효과는 말초신경 재생속도 증가(방문석 등, 1996; Midamba와 Haanaes, 1993; Randjelovic와 Vukic, 2000), 창상치유(Basford, 1986; Kameya 등, 1995; Lee 등, 1993), 통증완화(Basford, 1986; Arendt-Nielsen와 Bjerring, 1988; Zarlovicacute 등, 1989; Hansson, 1989; Mezawa 등, 1988; Kawakami 등, 1989), 혈액순환의 증가(Ohshiro와 Calderhead, 1988), 섬유모세포 증식(송인영과 이재형, 1997; Skobelkin 등, 1990; Karu, 1991), 림프구와 대식세포의 증식(Karu, 1991; Shiroto 등, 1989), 박테리아 증식 차단(Yanagawa 등, 1989), 대상포진치료(배성동, 1990), 관절연골손상의 치유(Shawn, 1998; Athanasiou 등, 1995; Vangsness 등, 1995) 등 현재까지 많은 연구의 결과로

밝혀지고 있다.

GaAlAs 반도체 다이오드 레이저의 창상치유 측면에서, Farouk과 Xing(1996)은 레이저 조사시 창상치유 회복율은 보통 10일에서 12일 사이에 90%이상이고 본 실험과 비교가 되는 3일과 4일 후는 보통 40%의 회복율을 보인다고 하였다. 본 실험에서도 형태학적 소견에서는 3일과 4일 후 약 40%의 회복률과 가까웠으나, 조직학적 소견에서는 3일과 4일 후 90%이상의 회복율을 관찰할 수 있었다. 즉, 외부의 형태는 아직 예전상태에 미치지 못하지만, 상피조직 속의 구조와 구성성분은 그의 완전한 회복율을 보이고 있었다.

레이저의 상처치유 효과에 대한 연구는 많이 행하여지고 있다. 그러나, 상처치유에 발현되는 물질의 형태학적 관찰이 아닌 상처치유를 유도하는 EGF와 같은 성장인자의 발현을 면역조직화학적 방법으로 밝힌 논문은 더물다. 본 실험에서는 레이저 조사가 EGF의 발현을 촉진시킴을 관찰하였고 이렇게 증가된 EGF가 주화성을 가지고 유사분열을 통하여 상처부위에 많은 수의 섬유모세포를 증가시키며 그 결과, 더 많은 콜라겐이 생성되어져 상처치유 과정을 촉진하는 것으로 생각된다.

물리치료의 영역 중, 전기·광선치료의 일종인 레이저 치료는 그 치료범위가 매우 한정적인 것이 현실이지만, 레이저의 정확한 특성을 이해한다면 보다 많은 물리치료 대상 영역을 획득할 수 있을 것이다. 현재 임상에서 레이저를 창상에 적용하고 있는 많은 물리치료사들이 있다. 그리고 다른 분야에서 레이저를 이용하여 창상치유 효과를 밝힌 연구 또한 많이 있었다. 그러나, 그 효과는 조직의 형태학적 변화를 보는 것이 대부분이었다. 이에 본 연구자는 창상에 저출력 레이저를 조사하여 창상치유의 한 지표가 될 수 있는 EGF의 발현을 관찰함으로써 물리치료 영역 중 레이저가 창상에 효과가 있음을 과학적으로 입증하였다.

창상치유에 대한 성장인자의 발현은 EGF와 더불어 여러 많은 성장인자가 함께 작용한다. 이점에 있어서는 이미 밝혀진 성장인자 뿐 만 아니라, 새로운 성장인자의 개입을 밝히기 위해 더 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

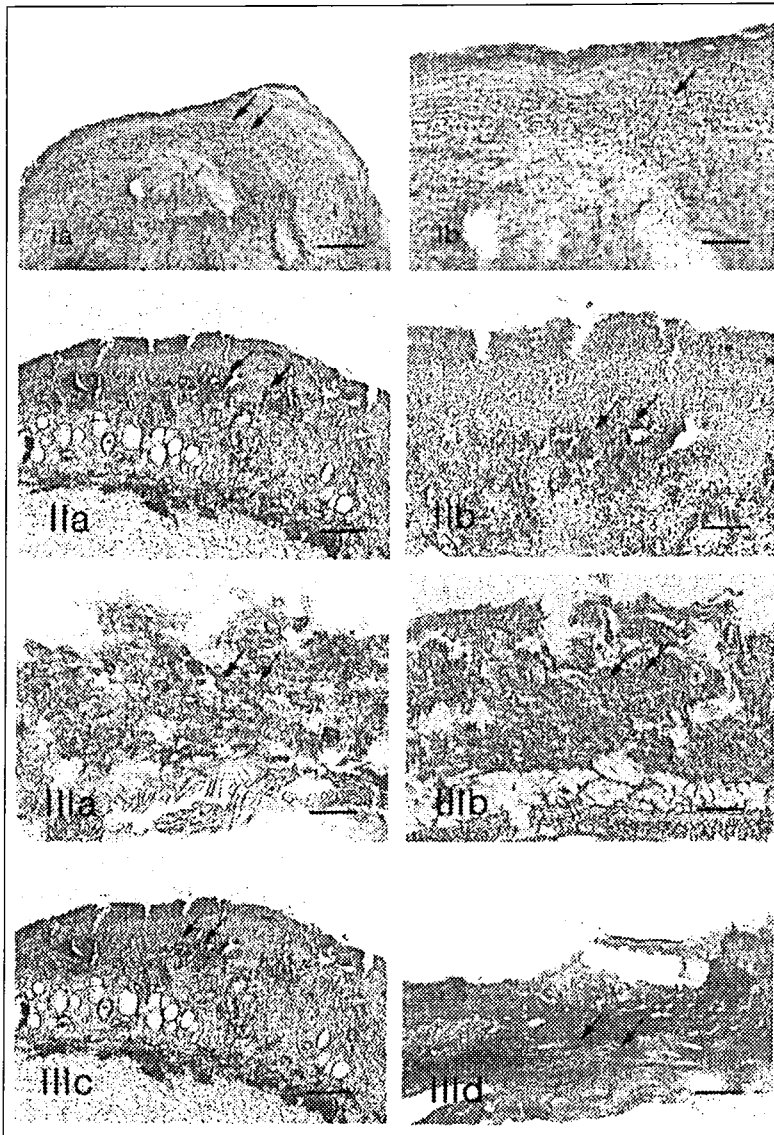
〈 참고 문헌 〉

강홍순 : LASER에 관한 문헌 고찰, 대한물리치료학회지, 3(1), 211-220, 1991.

- 김식현, 김수민, 김용수 : 전기자극이 상처치유에 미치는 효과, 대한물리치료학회지, 1(2), 121-130, 1994.
- 김식현, 전진석 : 저강도 레이저 조사에 의한 가토 피부의 상처 치유에 관한 연구, 대한의생명과학회지, 6(2), 119-129, 2000.
- 방문석, 한태륜, 이성재 : 저출력에너지 레이저가 손상된 말초신경의 신경전도 회복에 미치는 효과, 대한재활의학회지, 20(1), 28-32, 1996.
- 배성동 : 치료용 레이저를 이용한 대상포진(Herpes Zoster) 치료 19례에 대한 보고, 대한물리치료학회지, 2(1), 123-125, 1990.
- 송인영, 이재형 : He-Ne 레이저 조사가 배양 섬유모세포의 활성화에 미치는 영향, 대한물리치료학회지, 9(1), 71-79, 1997.
- 정문진 : 상처회복과 세포이동, Trends Med Res Cell Org, 7(2), 20-26, 2000.
- 최기섭, 임종문, 손여정 : Growth factor와 세포내 신호전달, <http://kjbs.snu.ac.kr/~Cry4Free/molbio/signal/rtk.htm>, 2000.
- Arendt-Nielsen L, Bjerring P. : Sensory and pain threshold characteristics to laser stimuli, Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry, 51(1), 35-42, 1988.
- Athanasίου KA, Fischer R, Niederauer GG, et al : Effects of excimer laser on healing of articular cartilage in rabbits, J Orthop Res., 13, 483-494, 1995.
- Babapour R, Glassberg E, Lask GP. : Low-energy laser systems, Clinics in Dermatology, 13, 87-90, 1995.
- Basford JR. : Low-energy laser treatment of pain and wounds: hype, hope, or hokum?, Mayo Clinic Proceedings, 61(8), 671-675, 1986.
- Bennett NT, Schultz GS. : Growth factors and wound healing: Biochemical properties of growth factors and their receptors, The Am J Surg, 165(6), 728-737, 1993a.
- Bennett NT, Schultz GS. : Growth factors and wound healing: Part II. Role in normal and chronic wound healing, The Am J Surg, 166(1), 74-81, 1993b.
- Brown GL, Curtsinger L, Brightwell JR, et al :

- Enhancement of epidermal regeneration by biosynthetic epidermal growth factor, *J Exp Med*, 163, 1319-1324, 1986.
- Brown GL, Nanney LB, Griffen J, et al : Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *N Engl J Med*, 321, 76-79, 1989.
- Brown GL, Curtsinger L, Jurkiewicz MJ, et al : Stimulation of healing of chronic wounds by epidermal growth factor, *Plast Reconstr Surg*, 88, 189-194, 1991.
- Carpenter G, Cohen S. : Epidermal Growth Factor, *J Bio Chemi*, 265(14), 7709-7712, 1990.
- Chegini N, Simms J, Williams RS, et al : Identification of epidermal growth factor, transforming growth factor- α , and epidermal growth factor receptor in surgically induced pelvic adhesions in the rat and intraperitoneal adhesions in the human, *Am J Obstet & Gynecol*, 171(2), 321-328, 1994.
- Farouk AHAW, Xing YZ : Comparison of the effects of laser therapy on wound healing using different laser wavelengths, *Laser Therapy*, 8, 127-135, 1996.
- Fisher DA, Lakshmanan J. : Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals(Review), *Endoc Reviews*, 11(3), 418-442, 1990.
- Fukasawa M, Bryant SM, Nakamura RM, et al : Modulation of fibroblast proliferation of postsurgical macrophages, *J Surg Res*, 43, 513-520, 1987.
- Fukasawa M, Yanagihara DL, Rodgers KE, et al : The mitogenic proliferation of postsurgical macrophages, *J Surg Res*, 47, 45-51, 1989.
- Galletti G. : Low power laser therapy: A noninvasive highly effective therapeutic modality, *Laser Therapy*, 9, 131-136, 1997.
- Hansson TL. : Infrared laser in the treatment of craniomandibular disorders, arthrogenous pain, *The journal of prosthetic dentistry*, 61(5), 614-617, 1989.
- Hong SR, Lee SJ, Shim JW, et al : Study on gelatin-containing artificial skin IV : a comparative study on the effect of antibiotic and EGF on cell proliferation during epidermal healing, *Biomaterials*, 22, 2777-2783, 2001.
- Imanishi J, Kamiyama K, Iguchi I, et al : Growth factors: Importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea, *Progress in Retinal and Eye Research*, 19(1), 113-129, 2000.
- Kameya T, Ide S, Acorda TJ, et al : Effect of different wavelengths of low level laser therapy on wound healing in mice, *Laser Therapy*, 7, 33-37, 1995.
- Kami T, Yoshimura Y, Nakajima T, et al : Effects of low-power diode lasers on flap survival, *Annals of Plastic Surgery*, 14(3), 278-283, 1985.
- Karu T. : Low intensity laser light action upon fibroblasts and lymphocytes, *Laser Therapy*, 175-179, 1991.
- Kawakami T, Ibaraki Y, Haraguchi K, et al : The effectiveness of GaAlAs semiconductor laser treatment to pain decrease after irradiation, *Higashi Nihon Shigaku Zasshi*, 8(1), 57-62, 1989.
- Lee P, Kim K, Kim K. : Effects of low incident energy levels of infrared laser irradiation on healing of infected open skin wounds in rats, *Laser Therapy*, 5, 59-64, 1993.
- Mezawa S, Iwata K, Naito K, et al : The possible analgesic effect of soft-laser irradiation heat nociceptors in the cat tongue, *Arch Oral Biol*, 33(9), 693-694, 1988.
- Midamba ED, Haanaes HR : Low reactive-level 830nm GaAlAs diode laser therapy successfully accelerates regeneration of peripheral nerves in human, *Laser Therapy*, 5, 125-129, 1993.
- Nanney LB : Epidermal and dermal effects of

- epidermal growth factor during wound repair, *J Invest Dermatol*, 94, 624-629, 1990.
- Nishida T, Tanaka H, Nakagawa S, et al : Fibronectin synthesis in by the rabbit cornea: effects of mouse epidermal growth factor and cyclic AMP analogs, *J Ophthalmol.*, 196, 196-202, 1984.
- Ohshiro T, Calderhead RG. : A practical introduction, *Low Level Laser Therapy*, 37-41, 1988.
- Paul M. : Wound healing-aiming for perfect skin regeneration, *Science*, 276, 75-81, 1997.
- Paul WF, Jefferey SR, Toru M, et al : Human KGF is FGF-related with properties of a paracrine effector of epithelial cell growth, *Science*, 245, 752-755, 1989.
- Randjelovic V, Vukic D. : Laser induced neuronal regeneration, *J Neurological Sciences*, 150(1), 326, 2000.
- Rochkind S, Nissan M, Lubart R, et al : The In-vivo-Nerve Response to Direct Low-Energy-Laser Irradiation, *Acta Neurochir*, 94, 74-77, 1988.
- Samuel EL, Jon CN, Robert BC, et al : Role of platelet-derived growth factor in wound healing: Synergistic effects with other growth factor, *Proc Natl Acad Sci*, 84, 7696-7700, 1987.
- Schultz G, Rotatori SD, Clark W. : EGF and TGF-alpha in wound healing and repair, *J Cell Biochem*, 45, 346-352, 1991.
- Shawn WO. : The healing and regeneration of articular cartilage, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 80(12), 1795-1812, 1998.
- Shiroto C, Sugawara K, Kumae T, et al : Effect of diode laser radition in vitro on activity of human neutrophils, *Laser Therapy*, 1, 135-140, 1989.
- Skobelkin OK, Kozlov VI, Litwin GD, et al : Blood microcirculation under laser physio and reflexotherapy in patients with lesions in vessels of low extremities, *Laser Therapy*, 2, 69-77, 1990.
- Tong M, Liu Y-F, Zhao XN. : Effects of different wavelengths of low level laser irradiation on murine immunological activity and intracellular Ca²⁺ in human lymphocytes and cultured cortical neurogliaocytes, *Lasers Med Sci*, 15, 201-206, 2000.
- Vangsness CTJr, Smith CF, Marshall GJ, et al : The biological effects of carbon dioxide laser surgery on rabbit articular cartilage, *Clin Orthop*, 310, 48-51, 1995.
- Wang HJ, Wan HL, Yang TS, et al : Acceleration of skin graft healing by growth factors, *Burns*, 22(1), 10-14, 1995.
- Wingren U, Franzen L, Larson GM, et al : Epidermal growth factor accelerates connective tissue wound healing in the perforated rat mesentery, *Journal of surgical research*, 53, 48-54, 1992.
- Zarkovicacute N, Manev H, Pericicacute D, et al : Effect of semiconductor GaAs laser irradiation on pain perception in mice, *Lasers in Surgery and Medicine*, 9(1), 63-66, 1989.



Legends for Figures

- Fig. I a,b Immunoreactivity (arrow) with the EGF in epidermis at 3 day after wound which is not laser irradiation (each $\times 40$; bar = $200\mu\text{m}$, $\times 100$; bar = $100\mu\text{m}$)
- Fig. II a,b Immunoreactivity (arrow) with the EGF in epidermis at 3 day after wound which is laser irradiation (each $\times 40$; bar = $200\mu\text{m}$, $\times 100$; bar = $100\mu\text{m}$)
- Fig. III a Immunoreactivity (arrow) with the EGF in epidermis at 1 day after wound which is laser irradiation ($\times 40$; bar = $200\mu\text{m}$)
- Fig. III b Immunoreactivity (arrow) with the EGF in epidermis at 2 days after wound which is laser irradiation ($\times 40$; bar = $200\mu\text{m}$)
- Fig. III c Immunoreactivity (arrow) with the EGF in epidermis at 3 days after wound which is laser irradiation ($\times 40$; bar = $200\mu\text{m}$)
- Fig. III d Immunoreactivity (arrow) with the EGF in epidermis at 4 days after wound which is laser irradiation ($\times 40$; bar = $200\mu\text{m}$)