

## 655nm 레이저 다이오드 조사에 따른 생물학적 특성 평가

천민우, 김성환, 박용필\*, 이호식\*, 김태곤\*, 박노봉\*\*

조선대학교 의과대학, 동신대학교 병원의료공학과\*, 충주대학교 전기공학과\*\*

### The biomedical effect of 655nm Laser Diode irradiation

Min-Woo Cheon, Seong-Hwan Kim, Yong-Pil Park\*, Ho-Shik Lee\*, Tae-Gon Kim\* and No-Bong Park \*\*

Chosun Univ, Dongshin Univ\*, Chungju Univ.\*\*

**Abstract** : This paper performed the basic study for fabricating the low level laser therapy apparatus, and one of the goals of this paper was to make this apparatus used handily. The apparatus has been fabricated using the 655nm laser diode and microprocessor unit. The apparatus used a 655 nm laser diode for laser medical therapy and was designed for a pulse width modulation type to increase stimulation effects. And then, each experiment was performed to irradiation group and non-irradiation group for cells. MTT assay method was chosen to verify the cell increase of two groups and the effect of irradiation on cell proliferation was examined by measuring 590nm transmittance of ELISA reader. As a result, the cell increase of cells was verified in irradiation group as compared to non-irradiation group.

**Key Words** : Laser diode, Irradiation, Medical therapy, MTT Assay, Cell proliferation

### 1. 서 론

레이저의 특정 성질을 이용한 저출력 레이저 치료 (LLLT: Low Level Laser Therapy)는 1989년 티나 카루 박사 에 의해 세포 기능의 자극 및 활성화[1]에 대한 사실이 밝혀지면서 세계적으로 각광받기 시작하였다. 이후, 저출력 레이저 치료에 대한 연구는 활발히 진행되었으며 세포의 정상화[2,3] 창상치유[4], 및 세포 증식[5]등의 다양한 효과들이 실험적으로 입증되었다. 본 연구에서는 최근 다양한 산업 분야에 사용되는 레이저 다이오드를 사용하여 다양한 컨트롤이 가능한 조사기를 개발하였으며, 이를 이용하여 655nm 레이저 다이오드 조사가, 세포 활성에 미치는 생물학적 특성을 평가하였다.

### 2. 실험

#### 2.1 실험장치

본 연구에서는 레이저 다이오드를 사용하여 마이크로 컨트롤러를 이용한 치료기를 설계 하였으며 다음 그림 1 에 장치의 구성도를 나타냈다. 제작된 기기는 휴대 및 사용이 편리하도록 Battery를 이용한 구동 및 MPU (Microprocessor Unit)을 이용하여 독립적인 사용이 가능하도록 구성되었다. 1~60분까지 분 단위로 조사시간 설정 및 광자극의 효과를 높이기 위한 다양한 조사 모드(정밀 조사 및 지속조사)의 설정이 가능하도록 구성하였다. 기기의 설정된 조사방식에 따라 기기의 중앙 처리부인 MPU에서 미세 전류 신호가 만들어져 증폭부를 거치게 되며, 증폭부에서는 레이저 다이오드의 구동에 맞게 전류 신호가 증폭되어 다이오드의 발진이 이루어진다. 연구에 사용된 레이저 다이오드는 3-Laser diode Technology 사의 제품으

로 파장이 655nm인 레이저 다이오드를 사용하였다.

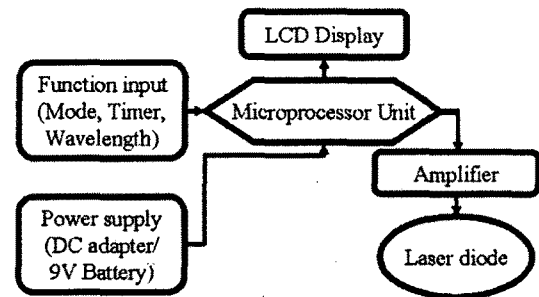


그림 1. 기기의 구성도

제작된 기기의 출력 특성을 OPHIR OPTRONICS 사의 NOVA II와 10×10 사이즈의 디텍터인 PD300을 이용하여 측정한 결과 지속모드에서의 출력은 2.9mW/cm<sup>2</sup>임을 확인하였다.

#### 2.2 생물학적 실험

655nm의 레이저 다이오드의 조사가 생물학적 특성에 미치는 효과를 평가하기 위해 NTacSam:SD의 골수 세포를 사용하여 in vitro 실험을 시행하였다. 실험에 사용된 골수 세포는 8주령 된 NTacSam:SD 수컷의 골수를 이용하여 Primary culture를 통하여 얻었다. 각각의 cell은 FBS(Fetal Bovine Serum, GibcoBRL, UK), DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, GibcoBRL, UK) 및 L-Glutamin (GibcoBRL, UK) 등을 혼합한 배지를 사용하여 배양하였으며, CO<sub>2</sub> 인큐베이터를 이용해 항상 37 °C, 5 %의 CO<sub>2</sub> 로 조건을 일정하게 해 주었으며 배지는 3~4일에 한 번씩 교환해 주었다. 광 조사에 사용된 골수 세포는 passage 3 로 0.05% Trypsin-EDTA(GibcoBRL, UK)를 사용하여 계대 배양 해주었으며, 표 1에 실험 광조사 그룹과 비조사 그

험의 사용된 실험 조건표를 나타냈다.

표 1. 실험 조건표.

	Irradiation	Non-Irradiation
Wave type	CW	
Wavelength	655 nm	none
Light intensity	2.9mW/cm <sup>2</sup>	
Irradiation time	5min / Days for 2days	
Cell round number	Passage 3	

2 일간 광조사 후 광조사 군과 비조사군의 변화를 확인하기 위해 광 조사 후 24시간 경과된 시점에서 Tada의 MTT Assay 법을 사용하였으며, MTT(Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide : GibcoBRL,UK) 수용액은 첨가 후 4.5 시간 CO<sub>2</sub> Incubator 내부에서 Incubation 하였으며 SDS(Sodium dodecyl sulfate :Fluka) 혼합 용액을 100 µL 넣어 다시 12시간 Incubation 시켜 주었다. Incubation 후 모든 well은 Molecular Device 사의 Microplate reader인 VERSA MAX의 590 nm 파장을 이용하여 흡광도를 측정하였으며 실험 모식도를 그림 2에 나타냈다.

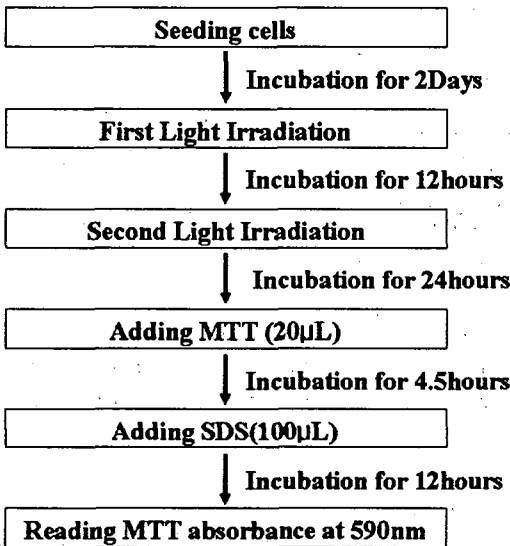


그림 2. MTT 실험의 모식도

### 3. 결과 및 고찰

광 조사에 따른 생물학적 특성을 확인하기 위해 사용한 MTT Assay에 대한 결과를 그림 3에 나타냈다. MTT Assay는 Tetrazolium염인 MTT는 생 세포에서만 청자색의 Formazan으로 환원이 되므로 살아있는 생세포의 활성 정도를 파악할 수 있는 방법으로 본 연구에서는 광을 조사한 그룹이 광을 조사하지 않은 그룹보다 높은 흡광도를 나타냄으로 보다 세포 활성이 활발히 일어난 것을 확인할 수 있다.

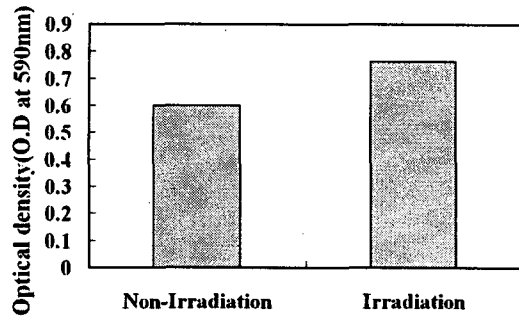


그림 3. 광조사군과 비조사군의 흡광도 비교

### 4. 결론

655nm 레이저 다이오드 조사가 세포에 작용하여 세포의 활성화에 미치는 생물학적 특성을 평가하기 위해 광조사가 용의 하도록 기기를 개발하였다. 655nm 레이저 다이오드의 광을 NTacSam :SD의 Bonemarrow cell에 24시간 간격으로 5분씩 광을 조사하여 주었으며, 광조사후 MTT ASSAY 법을 통하여 흡광도를 비교하였다. 그 결과 광 조사 그룹과 비조사 그룹에 비해 높은 흡광도를 확인하였다. 이는 655nm 레이저 다이오드의 조사가 세포에 영향을 미치는 것이라 단정 할 수 있으며 특히 이로 세포의 활성화에 좋은 효과가 있는 것으로 사료된다.

### 참고 문헌

- [1] T. Karu, "Photochemical effect upon the cornea, skin and other tissues: photobiology of low-power laser effects", Health. Phys. Vol. 56, p. 691, 1989.
- [2] B. Beauvoit, T. Kitai, and B. Chance, "Correlation between the light scattering and the mitochondrial content of normal tissues and transplantable rodent tumors", Biophys. Vol. 67, p. 2501, 1994.
- [3] B. Beauvoit, S. M. Evans, and T. W. Jenkins, "Contribution of the mitochondrial compartment to the optical properties of the rat liver: a theoretical and practical approach" Anal. Biochem. Vol. 226, p. 167, 1995.
- [4] H. T. Whelan, R. L. J. Smiths, E. V. Buchman, N. T. Whelan, S. G. Turner, D. A. Margolis, V. Cevenini, H. Stinson, R. Ignatius, T. Martin, J. Cwiklinski, A. F. Philippi, W. R. Graf, B. G. L. Hodgson, M. Kane, and G. Chen, "Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing", J. Clin. Laser. Med. Surg. Vol. 19, p. 305, 2001.
- [5] E. Mester, and AF. Meter, "The biomedical effects of laser applications", Laser. Surg. Med. Vol. 5, p. 31 1985.