

100kHz PWM LED 광조사가 백서 골수세포에 미치는 영향

천민우, 김성환, 김영표*, 이호식*, 박용필*, 유성미**, 이희갑***, 김태곤****
조선대학교, 동신대학교*, 광주보건대학교**, 대한상공회의소***, (주)바이오테코****

The effect of 100KHz PWM LED light irradiation on RAT bone-marrow cells

Min-woo Cheon, Seong-hwan Kim, Young-pyo Kim*, Ho-sic Lee*, Yong-pil Park*, Seong-Mi Yu**, Tae-gon Kim***
Chosun Univ. Dongshin Univ.* Gwangju Health College**, KCCI***, Bioateco Inc****.

Abstract : The study examined what effects 100kHz PWM LED light irradiation causes to bone marrow cells of SD-Rat when LED characterized cheap and safe is used onto the light therapy by replacing the low level laser. We developed the equipment palpating cell proliferation using a high brightness LED. This equipment was fabricated using a micro-controller and a high brightness LED, and designed to enable us to control light irradiation time, intensity, frequency and so on. Especially, to control the light irradiation frequency, FPGA was used, and to control the change of output value, TLC5941 was used. Consequently, the current value could be controlled by the change of level in Continue Wave(CW) and Pulse Width Modulation(PWM), and the output of a high brightness LED could be controlled stage by stage. 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 Rat bone marrow cells was verified in 100kHz PWM LED light irradiation group as compared to non-irradiation group.

Key Words : Bone-marrow cell, Cell culture, Light irradiation, PWM, Cell proliferation

1. 서 론

저출력 레이저 치료는 광의 특정 파장이 세포를 여기시켜 상처 치유[1] 및 염증 치료등에 사용되고 있으며, 뿐만 아니라 상처 주변의 증식에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[2]. 최근 저출력 레이저 광원이 세포 분열[3]을 유도하고 섬유아세포의 증식 촉진[4]등이 발표되어 많은 연구가 진행되고 있다. 본 연구 팀에서는 이러한 연구를 바탕으로 저출력 레이저를 대신하여 보다 안정적인 LED광원을 사용하여 세포에 미치는 영향을 확인하기 위해 광조사가 용이하도록 장치를 개발하였다. 또한 개발된 기기를 이용하여 광조사 주기가 세포에 미치는 영향을 확인하였다.

2. 실험

2.1 실험장치

제작된 기기는 LED광조사가 용이하도록 마이크로 컨트롤러를 이용하여 독립적인 구동이 가능하도록 하였으며, 다양한 파장의 적용이 가능하도록 LED로 구성된 광모듈을 D-sub 커넥터를 이용하여 구성하였다. 다음 그림 1에 제작된 기기의 모식도를 나타내었다. 제작된 기기는 6개의 LED광 모듈을 동시 혹은 개별적으로 광 조사 시간(Timer), 강도(Intensity), 주기(Frequency)등의 컨트롤이 가

능하도록 구성되었다. 안정적인 전원 공급을 위해 SMPS(Switching Mode Power Supply) 사용하여 교류 전원을 48V의 직류전원으로 다수의 LED로 구성된 광모듈에 충분한 전압 공급하도록 구성하였으며, 구동전압이 낮은 소자에 사용을 위해 5V의 DC/DC Converter를 사용하였다.

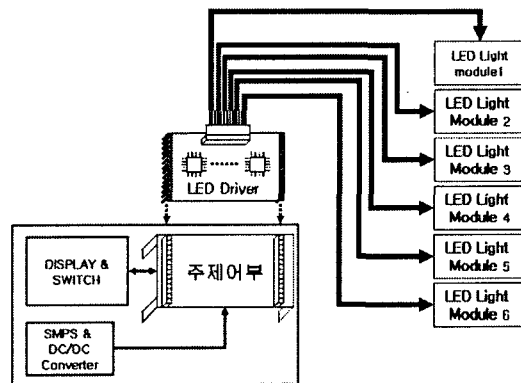


그림 1. 기기의 구성도

6개 채널의 해당 광모듈 및 On/Off 시스템 전반의 동작 상태를 표시해 주는 Display 부와 광조사가 사용자가 원하는 동작을 실행하도록 제어신호를 마이크로 컨트롤러에 입력하기 위한 Switch로 구성되어 있다. 기기의 주제어부는 구성된 하드웨어에 대한 전반적인 컨트롤을 위해 마이크로 컨트롤러인 ATmega128을 사용하였으며, PWM(Pulsed width modulation)과 CW(Continuous wave)의 제어

신호를 생성하는 FPGA(Field Programable Gate Array)로 구성되어 있다. 또한 광출력의 제어를 위해 별도의 IC를 사용하여 LED Driver단을 구성하였으며, LED를 동시에 컨트롤하기 위해 Monocolor, Multicolor, LED display 및 Display back-light 등에 다양한 사용이 가능한 TLC5941를 선택하여 광 모듈에 인가되는 전류를 30step로 나누어 LED 광출력 컨트롤이 가능하도록 구성하였다.

2.2 세포 실험

실험에 사용된 세포는 8주령의 Sprague-Dawley Rat(NTacSAM:SD)의 뒷다리 골수에서 채취한 골수세포로 FBS(Fetal Bovine Serum, GibcoBRL, UK), DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, GibcoBRL, UK) 및 L-Glutamin (GibcoBRL, UK)의 혼합배지를 사용하여 세포배양에 사용되는 인큐베이터 내부에서 배양하였으며, 광조사시에는 인큐베이터 외부에서 광을 조사하였다. 사용된 광모듈은 의료용으로 많이 사용되고 있는 He-Ne레이저와 비슷한 파장인 633nm의 LED 광모듈을 사용하였으며, 광조사 주기가 미치는 영향을 확인하기 위해 기기의 최대 주기인 100KHz로 실험을 실행하였다. 실험에 사용된 골수 세포는 passage 3의 세포로 광조사에 대한 변화를 확인하기 위해 광조사 그룹과 비조사 그룹으로 나누어 광을 조사하였다. 세포의 안정화를 위해 24시간 인큐베이션을 행하였으며, 세포가 plate에 안정적으로 붙은 것을 확인 후 1차와 2차 광조사를 24시간 간격으로 실시하였다. 광조사 이후 MTT ASSAY를 실시하였으며, 다음 그림 2에 모식도를 나타내었다.

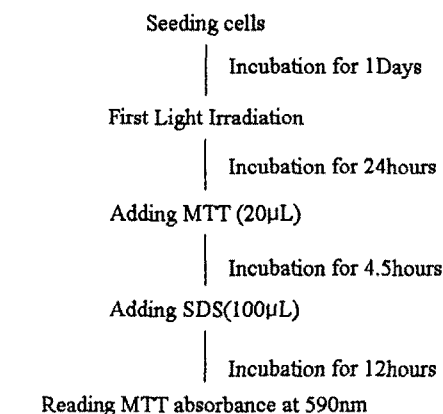


그림 2. MTT 모식도

광량은 기기의 최대 출력인 30step에서의 출력 값으로 ADVANTEST 사의 Optical power meter를 사용하여 5회 측정하여 출력 값은 $7.64\text{mW}/\text{cm}^2 \pm 2\%$ 의 세기로 광을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

세포의 증식에 미치는 영향을 확인하기 위해 노란색 수용성 MTT Teteazolium이 미토콘드리아의 탈수소 효소작용

에 의해 비수용성의 자주색을 띄는 MTT formazan으로 환원되어지는 MTT ASSAY법을 사용하였다. MTT Assay는 환원된 MTT formazan 용액을 Microplate reader를 이용해 흡광도를 측정하며, 측정된 흡광도는 대사 활성이 있는 세포의 수와는 직선상의 상관관계를 확인할 있다. 다음 그림3에 실험결과를 나타내었다.

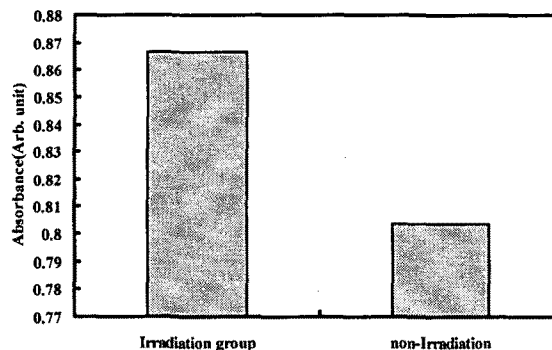


그림 3. 광조사 그룹과 비조사 그룹의 흡광도 비교

4. 결론

본 논문은 LED를 사용하여 주기(Hertz)를 가지는 LED를 이용한 저출력 광조사가 세포의 증식에 미치는 영향을 확인하기 위하여 개발된 PWM 저출력 광조사기를 사용하여 633nm의 100KHz에서 골수 세포에 광을 조사하였다. MTT 환원분석결과로 흡광도를 비교하여 633nm의 LED 광조사가 골수세포의 성장에 미치는 영향을 확인한 결과, 광조사 그룹이 광을 조사하지 않은 그룹에 비해 약 8% 정도 높은 흡광도를 보이는 것을 확인하였다. 결론적으로 633nm의 파장에서 100KHz의 주기를 가진 LED광이 세포의 성장 및 증식에 영향을 미치는 것을 확인하였으며, 광이 세포에 미치는 영향에 대한 많은 연구가 필요한 것으로 사료된다.

참고 문헌

- [1] M. T. Wongriley, X. Bai, E. Buchmann, H. T. Whelan, Neuroreport "Light-emitting diode treatment reverse the effect of TTX on cytochrome oxidase in neurons", Neuroreport.. 12, 3033, 2001.
- [2] E. Mester, A. F. Mester, A. Mester, " The biomedical effects of laset applications." Laser Surg Med, 5, 31, 1985.
- [3]. 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
- [4]. Hunter, J., Leonard, L. and Wilson, R., Et. al, : Effects of low energy laser on wound healing in a porcine model, Laser surg. Med., 3, 285, 1984,