

저출력 레이저 조사가 치은섬유아세포의 증식과 염기성 인산분해효소의 활성화에 미치는 영향

박병기 · 임기정 · 김병욱 · 한경윤

조선대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서론

레이저는 단색성, 응집성, 직진성, 광휘도성의 특징을 가지고 있으며 가시광선영역이나 적외선영역의 강력한 빛을 발산할 수 있는 기구로서¹⁾, 1960년 Mainman이 합성 루비결정에서 최초로 레이저를 발생시킨 이래 의학분야^{2~6)}와 치의학분야^{3, 7~11)}에서 널리 이용되고 있다.

레이저는 그 출력에 따라 고출력레이저와 저출력레이저로 분류될 수 있다. 고출력레이저(CO₂레이저, Nd:YAG 레이저 등)는 조사된 조직내에 흡수된 에너지가 열로 전환되는 과정에서 조직 손상을 나타낼 수 있으나 열효과와 광역학적 효과에 의해 조직제거, 소각, 절단 등 외과영역에서 사용되고 있다. 반면 저출력레이저(He-Ne레이저, Ar레이저, GaAlAs레이저, GaAs레이저 등)는 50mW이하의 저출력으로 열효과가 없으며 국제레이저분류 Class 3B에 해당되는데 여러 생물학적 분자들이 활성화되는 광화학적 효과에 의해 창상치유와 동통조절에 이용되고 있다⁷⁾.

1969년에 처음으로 저출력레이저조사가 조직치유를 자극하는데 이용될 수 있다고 보고되었고¹⁾, Mester¹²⁾는 1971년에 저출력 레이저

조사에 의해 창상치유가 촉진된다는 가설을 처음으로 발표하였는데, 섬유아세포와 상피세포의 성장, 교원질합성, 그리고 glycosaminoglycans 분비 등에 실험관내 실험을 통해 창상치유를 위한 촉진 효과가 없다는 보고도 있으나³⁾, 배양된 세포나 동물실험 등을 통하여 이 가설이 확증되고 있다. 즉 단백질합성이 증가됨을 김과 김 등⁸⁾이 보고하였고, 배양된 치은섬유아세포의 교원질 생산이 촉진됨을 Skinner 등¹⁴⁾이 보고하였고, 교원질 유전자표현이 향상되었음을 Abergel 등¹⁵⁾이 보고하였고, 조면내형질세망, 사립체의 증식 및 비대, 세포외원섬유성기질성분의 증가양상 등을 안과 신 등¹¹⁾이 보고하는 등, 저출력레이저 조사에 의해 창상치유에 대한 생체 자극효과가 있음이 보고되고 있다.

특히 1980년대에 개발된 저출력레이저인 반도체 레이저는 조직에 침투된 후 생체자극효과를 나타내므로 침술영역에서 침을 대신한 경우, 피부과 영역, 창상치유에 관해 악관절 동통이나 구강안 염증 및 동통에 관해, 신경재생 등에 이용되고 있다¹⁶⁾.

저출력레이저가 세포에 미치는 작용기전은 세포내외 성분간의 이온이동 촉진¹⁷⁾, cytochrome oxidase를 통한 사립체의 기능항

진작용^{18, 19)}, cytochrome를 통한 세포막 재분극에 대한 광전기적 작용^{20, 21)}, 단백질합성에 대한 광화학적 작용 및 RNA 합성촉진작용²²⁾, 그리고 DNA에 대한 공명작용^{23, 24)} 등으로 설명되고 있다.

1923년 Robinson은 염기성 인산분해효소 (Alkaline phosphatase, ALPase)가 골과 석회화중인 연골의 광화에 중요한 역할을 하는 당단백이라고 보고²⁵⁾하였는데, 이 효소는 유기인산에스테르로부터 인산이온들을 유리하도록하며 과포화상태가 된 경우 calcium phosphate salts의 침착을 초래하는 기능을 가지고 있다²⁵⁾.

치은섬유아세포와 치주인대세포의 석회화 결정 형성에 관한 연구를 보면, Melcher 등²⁶⁾은 탈회된 치근 조각위에 ascorbic acid와, β -glycorophosphate가 첨가된 배양액으로 각각 쥐의 골세포, 사람의 치은섬유아세포, 그리고 쥐의 치주인대세포를 함께 배양한 결과 골세포만이 in vivo에서 무세포성백악질이 형성되었음을 보고하였으며, Arceo 등²⁷⁾은 사람의 치주인대세포와 치은섬유아세포의 석회화 결정 형성에 관한 연구에서 치주인대세포는 석회화 결정 형성을 기시하는데 중요하며 치은섬유아세포의 비하여 ALPase의 활성이 더 높았으며 ALPase 수치가 높은 치주인대세포들이 수치가 낮은 세포들보다 석회화 결정을 더 빨리 더 많이 만들지 못했으며 이 효소의 활성은 광화동안에 더 증가한다고 보고하였다. 그리고 인 등²⁸⁾은 치주인대세포와 치은섬유아세포를 혼합배양한 연구에서 ALPase는 석회화 결정 형성 초기에 주로 관여하며 치은섬유아세포는 치주인대세포의 결정형성 기전을 억제한다고 보고하였다.

반면 Beertsen과 Van Den Bos²⁹⁾는 석회화된 기질과 ALPase, 그리고 유기 인산염이 있다면 치주조직이 아닌 어떤 조직내에서도 백악질과 유사한 층의 형성을 유도할 수 있음을 보고하였으며, Groenveld 등²⁵⁾은 접합상피

하방에서부터 치조정까지 백악질의 두께와 염기성 인산분해효소의 활성을 비교한 결과 비세포성 백악질의 두께와 이 효소 사이에는 강한 상관관계가 있음을 시사하였다.

본 연구는 향 후 치주조직의 치유에 관련된 기초자료를 얻고자 광자극 효과가 있다고 보고된 GaAs 레이저를 배양된 치은섬유아세포에 조사한 후 세포의 증식을 확인하고 ALPase의 활성변화를 측정하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료 및 세포배양

(1) 연구재료

본 연구를 위하여 치은섬유아세포는 제3대구치를 발거하기 위해 내원한 건강한 환자 2명의 치간치은을 0.5×0.5×0.5cm의 크기로 채취하여 배양하였다. 배양된 세포의 증식을 측정하기위해서 탐침시 출혈이 없는 19세된 건강한 남성의 치간치은을, 그리고 염기성 인산분해효소 활성도를 측정하기위해서는 21세된 건강한 남성의 치간치은을 채취하여 이용하였다.

(2) 세포배양

채취된 치은에 200unit/ml penicillin(Gibco, U.S.A)과 1 μ g/ml streptomycin(Gibco, U.S.A), 1 μ g/ml amphotericin-B(Gibco, U.S.A.)가 첨가된 Hank's balanced salt solution(HBSS)으로 10회 이상 세척한 다음 조직편을 1mm³의 크기로 세절한 후 직경 100mm의 배양접시에 10-20조각 정도로 고르게 분포시키고 10% Fetal bovine serum(FBS, Gibco, U.S.A)과 100 unit/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin(Gibco, U.S.A), 0.5 μ g/ml amphotericin-B(Gibco, U.S.A)가 첨가된 DMEM으로 37°C, 100% 습도, 5% CO₂ 상태하에서 배양하였으며, 배양액은 2일에 한 번씩 교체하였다.

2. 연구방법

(1) 세포수 산정

치은섬유아세포가 조직절편으로부터 증식되어 배양접시를 완전히 덮는 단층이 형성되면 배양접시 배양액을 제거하고 HBSS로 3번 씻어낸 다음 0.05% trypsin, 0.02% EDTA를 처리하여 배양접시로부터 세포를 떼어냈다. Hemocytometer에서 넣고 현미경하에서 400배로 관찰하여 세포수를 산정한 후 3×10^4 개/well로 대조군, 실험군으로 나누어 4-well(NUNC)세포배양기에 분주하여 실험에 이용하였다. 본 실험에서는 제3계대의 세포만을 이용하였으며, 모든 실험은 3배수로 시행하였다.

(2) 레이저 조사

본 연구에 이용된 레이저는 904nm의 파장을 갖고 있는 GaAs 레이저(table 1)로서 15mW, continuous wave를 이용하였으며, 세포의 증식과 염기성 인산분해효소의 활성도를 측정하기 위하여 1분(1.1J/cm²), 2분(2.2J/cm²) 동안 조사하였다.

(3) 세포증식률 측정

세포증식도는 methyl-³[H] Thymidine(Amersham, Life science, England)을 이용하여 레이저조사 24, 48시간 후에 각각 측정하였다.

0.5ml의 시료에 methyl-³[H] Thymidine 2.5 μ l를 첨가하고 4시간30분 동안 배양한 후 trichloroacetic acid(TCA)를 0.4ml을 넣고 4회 세척하였다. 그리고 0.1N NaOH을 100 μ l 첨가하고 10분간 배양기에서 배양한 후 scintillation tube에 3ml의 scintillation cocktail을 넣고 20 μ l의 시료를 첨가하고 6회 반복하여 scintillation tube를 잘 흔들어 준 다음 액체섬광계수기(scintillation counter : Beckman[®])에서 증식률(counter per minute)을 측정하였다.

(4) 염기성 인산분해효소 활성도 측정

염기성 인산분해효소의 활성도는 5일, 7일 후에 각각 측정되었다. 세포가 들어있는 4-well내의 배양액을 조심스럽게 제거한 후 PBS로 2회 세척하고 1% Triton X-100 0.1ml를 첨가하였다. Triton X-100을 넣은 시료를 얼음 위에서 20분 동안 방치한 후 alkaline buffer와 N-nitrophenol standard solution(Sigma, U.S.A)을 well에 각각 0.5ml씩 첨가한 다음 30분동안 37 $^{\circ}$ C에서 배양하였다. 그리고 0.05N NaOH 10ml을 첨가한 다음 2ml을 채취하여 410nm에서 spectrophotometer(Ultraspec 2000, Pharmacia, Biotech, England)로 흡광도(optical density)를 측정하였다.

(4) 통계분석

세포증식률과 염기성 인산분해효소 활성도에 대한 유의성 검정은 SPSS/PC+ 프로그램 내의 oneway ANOVA를 이용하였으며 사후검정은 Tukey 방법에 의해 p<0.05 수준에서 하였다.

Table 1 technical characteristics

maximum output power	27W
laser medium power	27mW
voltage	110/60-Hz or 200/50Hz
wavelength	904nm
laser medium	Therapy Semiconductor Laser(GaAs)
frequency	pulse type : 5 Hz to 10 KHz continuous wave type : 10 Hz to 100KHz

III. 연구성적

(1) 레이저조사에 따른 치은섬유아세포의 증식
레이저조사에 따른 치은섬유아세포의 증식은, 레이저조사 24시간 후의 경우 대조군에 비해 1분조사군과 2분조사군에서 각각 유의성 있게 증가(p<0.05)하였으나, 레이저조사 24

Table 2 GaAs laser stimulation of cell proliferation by human gingival fibroblast cultures following 24- and 48-hour lasing

	energy density	No of laser exposure/day	cell proliferation rate (counter per minute)	
			24-hour after	48-hour after
control		0	2843.00±109.42	2360.00± 482.50
1-minute lasing	1.1J/cm ²	1	3993.33±374.22*	2610.67±165.17
2-minute lasing	2.2J/cm ²	1	3724.33±425.42*	2782.33±207.20

*: p<0.05: compared to control

All values were counter per minute(cpm) and represented as mean±Standard Deviation.

Data were pooled from triplicate wells.

Table 3 Effects of GaAs lasers on alkaline phosphatase activity in human gingival fibroblast cultures

	alkaline phosphatase activity	
	5-day	7-day
control	0.1093±0.0820	0.1050±0.0062
1-minute lasing	0.2473±0.0266*	0.3030±0.0533*
2-minute lasing	0.2777±0.0814*	0.0567±0.0125 #
p value	p<0.05	p<0.05

*: p<0.05: compared to control,

#: p<0.05: compared to 1-minute lasing.

All values were represented as mean OD(optical density)±Standard Deviation.

Data were pooled from triplicate wells.

시간 후의 1분조사군과 2분조사군, 그리고 레이저조사 48시간 후의 대조군과 레이저조사군 사이에 유의성이 발견되지 않았다 (p>0.05)(table 2).

(2) 레이저조사에 따른 치은섬유아세포의 염기성 인산분해효소의 활성 변화

레이저조사에 따른 치은섬유아세포의 염기성 인산분해효소의 활성은 레이저조사 5일후의 경우 대조군에 비해 레이저 조사군에서 유의성 있게 증가하였으며(p<0.05), 레이저조사 7일 후의 경우 대조군에 비해 레이저 1분조사군에서만 유의성 있게 증가하였으며(p<0.05) 레이저 2분조사군은 레이저 1분조사군에 비해 유의성있게 감소하였다(p<0.05)(table 3).

IV. 총괄 및 고안

응집성이 강한 레이저광은 그 침투효과로 인하여 세포의 활성화, 신진대사의 촉진, 면역작용의 증가, 그리고 창상치유와 같은 생체 자극효과를 가지고 있다.

레이저조사에 의한 창상치유 향상에 관하여 공통적으로 언급되고 있는 기전은 레이저조사로 인하여 콜라겐 생성이 자극받는다(22)이며, 부수적으로 Mester 등³⁰⁾은 조직학적 소견을 토대로하여 재생중인 조직내에서 혈액순환이 증가된다고 하였으며 또한 지속적으로 존재하는 궤양을 치료하는데 있어 면역억제효과로 인하여 창상치유를 자극한다고

하였다. 반면 Lyons 등³¹⁾은 존재하고 있는 콜라겐섬유들의 교차결합이 증가하며 섬유의 주행방향이 향상된다고 보고하였다.

본 연구는 저출력레이저에 의한 치은섬유아세포의 증식을 확인하고 염기성 인산분해효소(alkaline phosphatase, ALPase)의 활성 변화를 측정하는 것인데 세포배양에 따른 계대차이에 의한 변수를 제거하기 위하여 동일인의 동일계대의 치은섬유아세포를 이용하였다.

저출력레이저에 의한 치은섬유아세포의 성장에 관하여 Takeda³²⁾는 저출력레이저 조사가 섬유아 세포의 증식을 현저하게 하였으며 또한 골창상치유에 좋은 효과를 가져오며 골양조직의 형성이 현저하였고 골화도 빨리 됨을 보고하였으며, 안과 신 등¹¹⁾은 레이저조사 후에 세포의 증가율이 일시적인 감소 현상을 거쳐 급속한 증가를 거쳐 휴지기에 도달한 후에 정상으로 회복되는 단계적인 변화를 나타낸다고 보고하였는데, 본 연구에서는 레이저조사 24시간 후에 세포 증식이 유의성있게 증가되었다. 세포성장과정에서 세포주기를 결정하는 중요한 인자는 G₁ phase 중 G₀ phase의 길이에 있는데 이 phase에 있는 한 세포는 분열단계로 넘어가지 못하게 된다. 세포가 어떤 환경적인 요소에 의해 특정자극을 받으면 특수시점을 넘어 G₁ phase로 들어가게 된다³³⁾. 본 연구에서는 어떠한 단계를 거치지 않고 레이저조사 24시간 후에 세포의 증식이 관찰되었는데 이것은 배양시 섬유아세포의 수를 다른 연구와 다르게 한 점, 동일계대를 이용한 점, 레이저출력이 다르다는 점, 그리고 아마도 레이저광이 G₀ phase에 있는 세포들에 하나의 자극원으로 작용하여 증식이 신속하게 이루어진 것으로 사료된다.

치주치료의 근본적인 목적은 상실된 치주조직을 재생, 즉 새로운 백악질과 치주인대 그리고 치조골이 재생되어 치주낭의 기저부가 치관부로 이동하여 치주낭을 감소/제거하는 것인데 치은 및 치주인대 섬유의 부착과 치

근흡수를 방지하기 위해 백악질의 형성은 필수적이라 할 수 있겠다.

그러나 치주조직내 섬유조직의 형성이 백악질의 형성보다 더 일찍 일어나므로³⁴⁾ 석회화물질의 형성유도와 관련된 효소에 대한 연구가 필요하게 되었다.

ALPase는 생체내에 널리 분포되어 있으나 이 효소는 내피세포내, 모세혈관벽내에, 결합조직의 섬유²⁹⁾, 혈청, 백혈구, 골, 신장, 비장, 폐, 부신피질, 석회화과정에 있는 치수 조상아세포, 염증상태에 있는 치수, 치은섬유아세포와 치주인대세포에 분포^{35, 36)}되어 있으며, 조골세포의 효소 표지자³⁷⁾로서 알려져 있다. 그리고 흡수와 분비가 활발한 뇨에는 신성 ALPase, 변에는 소장성 ALPase, 유즙에는 유선성 ALPase, 담즙에는 간성 ALPase 등이 밖으로 배설되고 있으며, 혈중의 ALPase는 간성, 골성, 태반성, 소장성, 종양생산성과 같은 많은 동위체들의 총화로서 존재하는데 골질환등에서 증가한다³⁸⁾.

ALPase에 의한 석회화된 층의 형성 유도에 관한 일련의 연구를 보면, Ecarot-Charrier 등³⁷⁾은 ALPase 수치가 높은 세포들이 석회화 결정 형성을 기시할 수 있다고 보고하였는데 Beertsen과 Everts³⁹⁾, Groenveld 등²⁵⁾도 또한 백악질과 유사한 층이 형성되기 위해서는 치아 경조직, ALPase 그리고 유기 인산염이 필요하다고 피력하면서 치주인대의 섬유아세포와 치근면에 접한 치은의 내면에 있는 섬유아세포가 백악질 형성과정에 관여함을 보고하였다.

본 연구에서 치은섬유아세포의 ALPase 활성은 레이저조사 5일 후에 유의성 있게 증가하다 7일 후에는 2분조사군에서 대조군과 비슷한 활성을 나타냈는데, Ogata 등⁴⁰⁾의 연구에서는 ALPase 활성이 배양 8일째에 발견되었다가 12일째부터는 발견되지 않았음을 보고하였다. 레이저를 조사할 때 1~10,000J/cm²의 에너지 밀도, 1~10⁻⁶sec의 짧은 노출시간

에서는 조직과 광열적 상호작용이 발생되어 45-50°C에서는 효소변화가 발생하고 부종이 생기며, 65°C 이상에서는 단백질변성이 일어날 수 있는데 이런 광열적 상호작용은 대부분 수술용 레이저에서 적용되고 있다²⁹⁾. 본 연구의 예비실험(15mW, 2분 조사) 결과에서 45°C이상으로 온도가 상승되지 않았으므로 온도에 의한 효소변화는 고려될 수 없었던 바, 치은섬유아세포내의 ALPase 활성이 시간 경과에 따라 감소되는 경향에 대한 연구, 특히 레이저 2분조사군에서 7일 후에는 대조군과 비슷한 활성도를 나타냈는데 ALPase의 활성 감소가 치주조직의 치유나 항상성 유지에 어떠한 역할을 하는지에 대한 연구도 필요할 것으로 사료된다.

Berkovitz와 Maden⁴¹⁾에 의하면 ALPase활성의 조직내 분포는 cellular retinoic acid binding protein(CRABP)의 분포와 유사하며 ALPase 유전자표현과 이의 활성을 유도할 수 있는 retinoic acid와 CRABP가 치주조직의 생물학에 중요한 역할을 할 것이라고 주장한 바 이들에 관한 연구도 필요할 것이라 사료된다.

한편 Matsuyama 등⁴²⁾은 정상인의 골세포를 배양하여 이 세포들은 ALP에 강한 양성 반응을 나타내는 세포와 중등도로 반응을 하는 세포가 존재하는데, 1,25(OH)₂Vit.D₃로 처리한 경우에 두개의 ALP 반응 세포군들의 비율이 증가하였고, 변형성장인자-베타(transforming growth factor-β)로 처리한 경우에는 ALP에 중등도로 반응을 하는 세포군만이 증가하였으며, fluoride는 ALP에 강한 양성반응을 나타내는 세포군의 비율을 증가시켰으나 인슐린유사성장인자-1(Insuline-like growth factor-1)은 ALP에 양성반응을 나타내는 세포군의 비율 증가에 어떠한 효과도 없음을 보고하였다. IGF-1은 교원성 단백질합성을 촉진시키는 성장인자로서 혈소판유리성장인자(platelete derived growth factor)와 복

합하여 사용할 경우 치주인대 섬유아세포와 골아세포의 증식, 교원성 및 비교원성 단백질합성 그리고 골기질의 형성을 촉진하는 것으로 보고⁴³⁾되었는데 레이저에 의한 성장인자에 대한 역할에 대한 연구도 필요할 것으로 사료된다.

본 실험결과와 문헌고찰을 통하여 저출력레이저가 치은섬유아세포들의 여러 다양한 생물학적 기능들을 조절할 수 있으며 또한 창상치유를 촉진 할 수 있음을 알 수 있었다. 그러나 현재까지는 치주조직내에서 ALPase의 석회화물질의 형성유도에 관련되어 상반된 역할을 하는 것으로 보고되고 있는 바, 향후 치은섬유아세포내 ALPase가 치주조직의 창상치유에 끼치는 영향에 대한 연구, 그리고 치주인대세포와 치은섬유아세포에 관련된 ALPase의 성상에 관한 연구, 그리고 레이저 조사와 상실된 치주조직의 재생에 관한 연구들이 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 저출력 레이저인 GaAs 반도체 레이저 조사에 의한 치은섬유아세포의 증식과 염기성 인산분해효소 활성의 변화를 측정하기 위하여 시행되었다. 저자는 본 연구를 시행하기 위하여 배양된 제3계대의 치은섬유아세포를 각 well 당 3×10⁴개로 분주한 후 대조군과 레이저조사 1분군(에너지 밀도 : 1.1J/cm²)과 2분군(2.2J/cm²)으로 분류하고 그 세포의 증식과 효소 활성변화를 측정하였는데, 3배수로 각각을 측정한 후 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 레이저조사에 의한 치은섬유아세포의 증식은 대조군(2843.00±109.42*)에 비해 레이저 조사군(3993.33±374.22*, 3724.33±425.42*)에서 유의성 있게 증가하였다 (p<0.05)(* : cpm).

2. 염기성 인산분해효소의 흡광도는 레이저 조사 5일 후에 대조군(0.1093 ± 0.0820)에 비해 레이저조사 5일 후에 레이저조사군(0.2473 ± 0.0266 , 0.2777 ± 0.0814)에서 유의성있게 증가하였으며($p < 0.05$), 7일 후에는 대조군(0.1050 ± 0.0062)에 비해 1분 레이저 조사군(0.3030 ± 0.0533)에서 유의성있게 증가하였으며, 2분 레이저 조사군(0.0567 ± 0.0125)에서는 1분 레이저 조사군(0.3030 ± 0.0533)에 비해 유의성 있게 감소하였다($p < 0.05$).

이상과 같이 제한된 실험에 의하면, 저출력 레이저 조사가 치은섬유아세포의 증식을 촉진시키며, 어느 특정시기까지는 염기성 인산분해효소의 활성에 영향을 끼친다고 사료되었다.

참고문헌

1. Strang, R. and Moseley, H. : "Soft Lasers-Have They a Place in Dentistry?", Br Dental J., 24 : 221-225, 1988.
2. 김인철 : "일반외과영역에서의 레이저광의 응용", 대한의학협회지., 27(2) : 131-135, 1984.
3. 김재호·허원 : "안과영역에서의 레이저광의 응용", 대한의학협회지., 27(2) : 103-112, 1984.
4. 박경남 : "내과영역에서의 레이저광의 응용", 대한의학협회지., 27(2) : 143-148, 1984.
5. 유명철 : "정형외과영역에서의 레이저광의 응용", 대한의학협회지., 27(2) : 119-124, 1984.
6. 이태권 : "성형외과영역에서의 레이저광의 응용", 대한의학협회지., 27(2) : 120-130, 1984.

7. 권순오·한경수·김병욱 : "저출력레이저 조사가 백서의 좌골신경 재생에 미치는 영향에 관한 연구", 대한구강내과학회지., 16 : 17-31, 1991
8. 김기석·김생곤 : "치은섬유아세포에 대한 저출력레이저광의 효과에 관한 실험적 연구", 대한구강내과학회지., 12(1) : 17-26, 1987.
9. 김성권·조재오 : "저출력 laser 조사가 백서 구강점막 창상부 비만 세포의 분포에 미치는 영향에 관한 실험적 연구", Oral Biology Reserch., 15 : 149-166, 1991.
10. 변상길 : "Ga-As 레이저광이 가토손상 말초신경의 재생능력에 미치는 능력", 대한 구강악안면과학회지., 18(1) : 53-63, 1992.
11. 안낙현·신금백 : "저출력레이저가 성인의 치은섬유아세포의 성장양상과 미세구조에 미치는 영향에 관한 실험적 연구", 대한구강내과학회지., 17(2) : 129-149, 1992.
12. Mester, E., Spiry, T., Szende, B. and Tota, J.G. : "Effect of laser rays on wound healing", Am. J. Sur., 122 : 532-535, 1971.
13. 김정민·심금백 : "저출력레이저조사와 염증성 자극물질이 치은섬유아세포의 유전자 발현에 미치는 영향에 관한 실험적 연구", 대한구강내과학회지., 19(2) : 57-71, 1994.
14. Skinner, S.M., Gage, J.P., Wilce, P.A. and Shaw, R.M. : "Effects of Laser Radiation on Collagen Metabolism in Cell Culture", J. Dent. Res., 71(4) : 981, 1992.
15. Abergel, R.P., Lyons, R.F., Castel, J.C. Dwyer, R.M. and Uitto, J. : "Biostimulation of wound healing by lasers: Experimental Approaches in

- Animal Models and in Fibroblast Cultures", *J. Dermatol Surg. Oncol.*, 13 : 127-133, 1987.
16. 박경량 : "레이저 치료법 신비의 베일을 벗긴다", *대한치과의사협회지.*, 29(3) : 217-224, 1991.
 17. Kubasova, T., Kovacs, L., Somosy, Z., Unk, P. and Kokai, A. : "Biologic effect of He-Ne laser", *Laser in Surgery and Medicine.*, 4 : 381-388, 1984.
 18. Bosatra, M., Jucci, A., Olliaro, P., Quaccim, D. and Sacchi, S. : "In vitro Fibroblast and Dermis Fibroblast Activation by Laser Irradiation at Low Energy, An Electron Microscopic Study", *Dermatologica.*, 168 : 157-162, 1984.
 19. Rounds, D.E. and Olson, R.S. : "The effect of the laser on cellular respiration", *Zellforsch.*, 87 : 193, 1968.
 20. Olson, J.E., Schimmerling, W. and Tobias, C.A. : "Laser action spectrum of reduced excitability in nerve cells", *Brain Res.*, 204 : 436, 1981.
 21. Rounds, D.E. and Olson, R.S. : "The effect of intense visible light on cellular respiration", *Life Sci.*, 6 : 359, 1976.
 22. Albergel, R.P., Lam, T.S. and Meeker, C.A. : "Biostimulation of procollagen production by low energy lasers in human skin fibroblast cultures", *Clin. Res.*, 32 : 567, 1984.
 23. Fine, S., Klein, E., Nowak, W. and Scott, R.E. : "Interaction of laser radiation with biologic systems I. Studies on interaction with tissue", *Fed. Am. Soc. Exp. Biolo.*, 24 : 35, 1965.
 24. Goldman, L. : "Laser action at the cellular level", *J. Am. Med. Asso.*, 198 : 641, 1966.
 25. Groenveld, M.C., Everts, V. and Beertsen, W. : "Alkaline Phosphatase Activity in the Periodontal Ligament and Gingiva of the Rat Molar : Its Relation to Cementum Formation", *J Dent Res.*, 74(7) : 1374-1381, 1995.
 26. Melcher, A.H., Cheong, T., Cox, J., Memeth, E. and Shiga, A. : "Synthesis of cementum-like tissues in vitro by cells cultured from bone: a light and electron microscope study", *J Perio Res.*, 21 : 592-612, 1986.
 27. Arceo, N., Sauk, J.J., Moehring, J., Foster, R.A. and Somerman, M.J. : "Human nodules in vitro", *J. Periodontol.*, 62 : 499-503, 1991.
 28. 인영미 · 박준봉 · 이만섭 · 권영혁 : "치주인대세포와 치은섬유아세포의 혼합배양이 석회화 결절형성에 미치는 영향", *대한치주과학회지.*, 26(1) : 89-102, 1996.
 29. Beertsen, W. and Van Den Bos, T. : "Formation of Cementum-like Layers in a Novel in Vitro Model", *J Dent Res.*, 69 : Abs. 1301, 1990.
 30. Mester, E., Mester, A.F. and Mester, A. : "The biomedical effects of laser application", *Lasers Surg Med.*, 1 : 241-252, 1981.
 31. Lyons, R.F., Albergel, R.P., White, R.A., Dwyer, R.M., Castel, J.C. and Uitto, J. "Biostimulation of Wound Healing in Vivo by a Helium-Neon Laser", *Ann Plast Surg.*, 18(1) : 47-50, 1987.
 32. Takeda, Y. : "Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction, Experimental study in rats", *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 17 : 388-391, 1988.

33. 서울대학교 의과대학 : “세포생물학”, 제2판. 서울대학교 출판국., 서울. 161-165, 1991.
34. Nalbandian, J. and Frank, R.M. : “Electron microscopic study of the regeneration of cementum and periodontal connective tissue attachment in the cat”, J Perio Res., 15 : 71-89, 1994.
35. Jablonsky, S. : “Illustrated Dictionary of Dentistry” , Saunders company, Philadelphia, London, Toronto, Mexico city, Rio de Janeiro, Sydney Tokyo, 605, 1982.
36. Schluger, S. : “Periodontal Diseases”, Lea & Febiger, Philadelphia, London., 221-262, 1990.
37. Ecarot-Charrier, B., Shepard, N. Charette, G., Goynpass, and M.Glorieux, F.H. : “Mineralization in osteoblast cultures : A light and electron microscopic study”, Bone., 9 : 147-154, 1988.
38. 이귀녕 · 이종순 : “임상병리파일”, 재단법인대한임상의학 연구소. 제2판. 의학문화사., 229-233, 1992.
39. Beertsen, W. and Everts, V : “ Formation of Acellular Root Cementum in Relation to Dental and Non-dental Hard Tissues in the Rat”, J Dent Res., 69(10) : 1669-1673, 1990.
40. Ogata, Y., Niisato, N., Sakurai, T., Furuyama, S. and Sugiya, H. : “Comparison of the Characteristics of Human Gingival Fibroblasts and Periodontal Ligament Cells” , J Periodontol., 66 : 1025-1031, 1995.
41. Berkovitz, B.K.B. and Maden, M. : “Cellular retinoic acid binding protein in the periodontal ligament”, J. Periodontol., 64 : 39-396, 1993.
42. Matsuyama, T., Lau, K.H., and Wergedal, J.E. : “Monolayer cultures of normal human bone cells contain multiple subpopulations of alkaline phosphatase positive cells”, Calcif-Tissue-Int., 47(5) : 276-83, 1990.
43. Polson, A.M. : “ Periodontal Regeneration”, Quintessence Publishing Co, In Chicago, Berlin, London, Mosco, Prague, Sofia, Warsaw., 179-198, 1994.

The effect of low level laser irradiation on proliferation and alkaline phosphatase activity of human gingival fibroblast in vitro

Byung-Ki Park, Kee-Jung Lim, Byung-Ock Kim, Kyung-Yoon Han
Department of Periodontology, School of Dentistry, Chosun University

This study was performed to identify the proliferation and to measure the alteration of alkaline phosphatase activity in human gingival fibroblasts cultured. For the present study, the authors cultured the human gingival fibroblasts oriented from the sound interdental gingiva, and used third passage.

It was used methyl $^3\text{[H]}$ Thymidine to identify the proliferation in human gingival fibroblasts and used 410nm of the spectrophotometer to measure the alteration of the alkaline phosphatase activity in human gingival fibroblasts.

The results were as follows:

1. There was a statistically significant increase in the proliferation of gingival fibroblasts following low level laser irradiation at 24 hour($p<0.05$).

2. There was a statistically significant increase in activity of alkaline phosphatase compared to control group at 5-day laser irradiation after in laser irradiation groups($p<0.05$).

And there was a statistically significant increase in activity of alkaline phosphatase compared to control group at 7-day laser irradiation after in the 1-minute laser irradiation group($p<0.05$), but there was a statistically significant decrease in activity of alkaline phosphatase compared to 1-minute laser irradiation group at 7-day laser irradiation in the 2-minute laser irradiation group after($p<0.05$).

The results, within the limits of the present experiments, suggest that, the low level laser irradiation accelerates the proliferation of gingival fibroblasts and alters the alkaline phosphatase activity until the restricted period.