

저 에너지 레이저 강도가 화상흰쥐의 혈청 면역글로불린의 성분 변화에 미치는 효과

부산가톨릭대학 물리치료학과
노 민 희
부산가톨릭대학 임상병리학과
김 재 영

The Effects of the low power intensity He-Ne IR laser on the change of the Serum Immunoglobulin components in burn rat

Rho, Min-Hee

Dept. of physical therapy, Pusan Catholic University

Kim, Jae -Young

Dept. of clinical phathology, Pusan Catholic University

<Abstract>

This studies were to investigate the effects of low power intensity Helium-Neon Infra-Red(He-Ne IR) laser on the changes of the serum immunoglobulin(Ig) components in burn rats, The forty eight Spraque-Dawley adult male rats were assigned to the 8 groups: the experimental groups(4), the burn control groups(2) and the control groups(2)

There was made three degree burn by the 250 mW IR on the back of each rats, from 3 days after being burned, the experimental laser groups were irradiated low power He-Ne IR laser for 3 minutes and 4.5 minutes every day during the 7days and 21 days.

The results were as follows:

The concentrations of immunoglobulin G(Ig G) in serum of burn rats on the treated with during the 3 minutes laser for 7 days were higher than those of burn and 4.5 minutes laser groups.

There were significantly decreased the change of the level of immunoglobulin M(Ig M) in serum of burn rats on the treated with 3 minutes laser for 7 days to the control group, but were significantly increased on the 3 minutes and 4.5 minutes laser groups for 21 days to the those of burn and control groups, and the levels of the Ig M on the 3 minutes laser group for 21 days were higher than those of 7 days.

The concentrations of immunoglobulin E(Ig E) in serum of the burn rats on the experimental and burn groups were significantly lower than those in control group.

As above results, The changes of the level of immonoglobulin components in serum have meaningful role in the healing process on the treated with the low pewer intensity of He-Ne IR laser.

* 이 논문은 2000학년도 부산가톨릭대학교 학술연구 조성비에 의하여 연구되었음.

I. 서론

광범위 화상 후 사망까지 초래할 수 있는 가장 흔한 임상증상은 패혈증으로, 면역기능 억제와 밀접한 관계가 있다(Munstrer, 1976). 화상 후 숙주방어 기전은 어느 단독변화에 의하지 않고 일차적으로 피부의 손상에 의한 염증반응과 이에 따른 비특이성 숙주방어 기전인 대식세포의 변화, 증식구 및 림프구 변형, 보체계 변화 등, 화상 후 면역기전의 변화는 복잡하여 어느 단독변화로 설명하기란 쉽지 않다(Rapaport 등, 1964). 특히 화상 시 면역억제는 여러 가지 실험지표에 의해 증명되고 있다, 화상 입은 환자에서는 동종피부이식 생존기간의 연장, 지연성 피부과민성 반응의 저하 및 mitogen에 대한 반응 저하(McIrvine 등, 1982) lymphokine생산 감소(Xi-Ming, 1983) 등을 볼 수 있으나, 이에 대한 정확한 기전은 확실하게 밝혀지지 않고 있다.

면역조절 저하 상태를 회복시키기 위해 예방접종, 보강제(adjuvant), lymphokine, 단일항체, 전달인자(transfer factor) 등의 면역조절 방법들의 사용이 시도되고 있다(Johnson 등, 1975). 그러나, 아직 광범위 화상 시 면역조절 제재들이 세포면역능에 어떠한 영향을 미치는 지 정확히 밝혀져 있지 않다. Hershman(1988)은 쥐에서 화상 후 r-interferone(r-IFN) 생성이 저하되고 감염으로 인한 사망률이 높았으나 화상 후 r-IFN을 투여한 결과 그로 인한 사망률을 줄일 수 있다고 보고하였다. 또한 Han 등(1991)은 화상을 입힌 흰쥐에게 r-IFN과 polyinosinic polycyidylic acid를 투여한 결과 세포면역력 향전에 영향을 주는 것으로 관찰되었다. Yoon과 Moon(1994)은 실험동물에 면역장애를 일으킨 후 대식구를 창면 주위에 주사하여 상처치유 기간이 단축되었다고 보고하였다.

1960년대에 이르러 루비레이저가 처음 소개된 이래, 오늘날 의학분야에서 여러 종류 레이저가 다양한 목적으로 이용되고 있다. 특히 저출력 레이저는 최근 물리치료 임상현장에서 널리 이용되고 주목받고 있으나 그 효과와 작용기전에 관해 논란의 여지가 많은 것은 사실이다(Ann, 1997). Kana 등(1981)은 25 mw의 He-Ne 레이저와 45mw의 Argon 레이저를 사용하여 흰쥐 피부상처의 교원질 합성을 비교하였을 때 He-Ne 레이저가 가장 효과적이라고 주장하였다. Lievens(1991a)는 8.8mw의 IR레이저를 사용하여 혈액 순환 증가 효과를 관찰하였고, Rochkind 등(1989)은 16mw의 He-Ne 레이저

조사가 중추와 말초신경계의 회복에 미치는 효과와 비수하게 피부상처와 화상상처 치유에도 효과적이라고 보고하였다. Ann(1997)은 830nm의 He-Ne IR 레이저를 157mw로 적용하여 레이저 치료군과 대조군의 창상길이의 변화를 비교한 결과 4일, 7일, 10일, 17일 치료군이 대조군에 비해 창상 길이가 유의하게 감소되어, 레이저 조사로 창상치유가 촉진됨을 보였다고 보고하였다.

Goldman(1996)은 상처의 출혈에 대해 레이저 조사 후 혈액응고의 촉진효과가 증명되었다고 하였고, Basford 등(1986)은 저에너지 레이저 치료가 세포의 분열, 식균, 면역, 호흡의 변화를 촉진하였다고 보고했다.

이에 저자들은 화상 후 발생하는 면역기능의 변화를 좀더 깊이 이해하기 위해 생쥐에 심도 화상을 입힌 후 저에너지 He-Ne IR 레이저를 조사하여 그 강도가 상처치유에 관여하는 면역글로불린의 혈청 내 변화를 측정하고자 본 실험을 시도한다

II. 실험재료 및 분석방법

1. 실험동물 및 식이

실험동물은 부산가톨릭대학교 동물실험실에서 직접 계대한 평균체중이 245 ± 12.15 g되는 Sprague-Dawley계 수컷로 각 군당 6마리씩 8군으로 48마리를 체중이 비슷한 것끼리 배정하였다. 실험동물은 2개의 대조군과, 2개의 화상대조군은 각각 7일과 21일군으로 구분하였고, 4개의 레이저 실험군들은 7일과 21일 각각 3분 레이저 치료군(이하 3분 레이저군), 4.5분 레이저 치료군(이하 4.5분 레이저군)으로 구분하였다.

화상제작은 화상 대조군과 레이저 실험군들의 화상을 유발시키기 위해 흉 배부와 요 배부 사이를 탈모연고를 이용하여 완전히 털을 제거한 후 직경이 1.5cm 크기의 원통 깔때기를 고정한 후 250mW 단파적외선을 이용하여 1cm 거리에서 10분간씩 조사하여 3도 심부 화상을 유발시켰다.

레이저 치료는 저 에너지 He-Ne IR Laser(Lasotron MED. 100, Lasotron A.G. Switzerland)로 재원은 He-Ne 파장은 632 nm, 출력 20 mW, IR Laser 파장은 830 nm, 출력 20 mW×4이다. 상기 기기를 사용하여 화상 후 3일 제부터 심부 3도 이상 화상반응으로 나타난 염증조직을 확인하고, 각 군

별로 레이저 치료를 실시하였다. 치료 시 움직이지 못하도록 고정 틀에 고정한 후 Canon-1365를 사용하여 하루에 한번씩 약 15cm 거리에서 각 군별로 3분과 4분 30초 동안 조사하였다.

2. 시료채취 및 분석

레이저 치료가 7일째와 21일째가 되기 전 16 시간을 절식한 다음 대조군과 함께 ethyl ether로 전신 마취한 다음 흉부를 절개하여 심장 내에서 직접 채혈하였다. 채혈된 혈액은 실온에서 30분 방치한 후 3000 rpm에서

20분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 즉시 각 성분 분석에 사용하였다. 면역글로불린인 Ig A, M, G는 면역혈청 자동분석기(Behring Nephelo, Meter in German)을 사용하여 분석하였고, Ig E는 면역혈청 자동분석기(Cobas Core in Switzerland)을 사용하여 분석하였다.

본 연구에 실험결과 자료는 평균치와 표준편차로 나타내었고 통계적 유의성 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 student t-test를 이용하여 상호 비교하였다.

Ⅲ. 결 과

Table 1. the change of the serum immunoglobulin components on the treatment duration of He-Ne IR laser for 7days

	Ig G mg/dL ×10 ²	Ig A mg/dL	Ig M mg/dL	Ig E mg/dL
St con	34.21±10.93 a	31.17±0.08 a	58.42±0.84 a	0.73±0.10 a
burn con	37.66± 7.66 a	31.10±0.00 a	48.98±2.44 b	0.38±0.12 b
3 min laser	52.03± 4.59 b	31.10±0.00 a	43.27±1.49 c	0.42±0.08 bd
4.5 min laser	34.48±10.72 ac	31.13±1.69 a	48.13±1.69 b	0.53±0.05 ce

Ig G: immunoglobulin G, Ig M: immunoglobulin M, Ig A: immunoglobulin A,

Ig E: immunoglobulin E, St con: standard control

All values are mean±SD(n=6)

Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at $p < 0.05$

표 1에서 보는 바와 같이 화상 쥐에 7일 동안 레이저를 치료한 결과 면역글로불린 G(이하 Ig G라 한다)는 대조군에 비해 화상군이나 4.5분 레이저군은 유의성 있게 변화하지 않았으나 3분 레이저군에서는 유의하게 증가하였다. 또한, 3분 치료군에 비해 4.5분 치료군에서 오히려 유의하게 감소하였다. 즉 4.5분 치료군은 오히려 대조군에 거의 비슷하게 나타났다.

면역글로불린 A(이하 Ig A라고 한다)는 대조군에 비해 화상군이나 레이저 치료군들에서 거의 비슷하게 변화가 없었다. 화상군이나 모든 치료군들 사이에서도 유의한 차의 변화는 나타나지 않았다. 면역글로불린M(이하

Ig M이라 한다)는 대조군에 비해 화상대조군이나 레이저 치료군들에서 유의하게 감소되었다. 화상대조군과 4.5분 치료군에 비해 3분 치료군은 유의하게 감소하였으나 4.5분 치료군에서는 유의하게 변화가 없었다. 면역글로불린 E(이하 Ig E라고 한다)는 대조군에 비해 화상대조군이나 레이저 치료군들 모두에서 유의하게 감소되었으며, 화상대조군에 비해 3분 치료군은 변화가 없었으나 4.5분 치료군에서는 유의하게 증가하였다. 또한 3분 치료군에 비해 4.5분치료군에서 오히려 유의하게 증가하였다.

Table 2. the changes of the serum Immunoglobulin components on the treatment

	Ig G mg/dL ×10 ²	Ig A mg/dL	Ig M mg/dL	Ig E mg/dL
St con	34.21±10.93 a	31.17±0.08 a	58.42±0.84 a	0.73±0.10 a
burn con	27.80± 5.54 b	31.12±0.04 a	49.35±1.89 b	0.62±0.08 ab
3 min laser	32.99± 7.70 ab	31.10±0.00 a	86.97±0.60 c	0.78±0.05 ac
4.5 min laser	35.07± 7.48 abc	31.10±0.00 a	80.02±0.72 dc	0.78±0.08 ac

Ig G: immunoglobulin G, Ig A: immunoglobulin A, Ig M: immunoglobulin M,

Ig E: immunoglobulin E, St con.: standard control.

All values are mean±SD(n=6).

Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05.

표 2에서는 21일간 화상부에 레이저를 치료한 결과 Ig G는 대조군에 비해 화상군에서만 유의하게 감소하였으나 레이저 치료군들에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다. 그러나 화상대조군에 비해 레이저 치료군들은 증가되었으며 특히 4.5분 치료군에서는 유의하게 증가하였다. Ig A는 대조군이나 화상군 및 레이저 치료군들 사이에 변화는 나타나지 않았다.

Ig M은 대조군에 비해 화상군은 감소하였으나 레이저

치료군들에서 유의하게 증가하였다. 화상군에 비해 레이저 치료군들은 유의하게 증가하였다. 특히 3분 치료군에 비해 4.5분 치료군들 사이에서는 큰 변화가 나타나지 않았다. Ig E는 대조군에 비해 화상군이나 레이저 치료군들에서는 유의한 변화가 없었으며, 화상대조군에 비해 레이저 치료군들에서는 유의하게 증가하였다. 그러나 레이저 치료군들 사이에서는 변화가 나타나지 않았다.

Table 3. The changes of the serum Immunoglobulin components on the treatment period (duration 3 min) of He-Ne IR laser

	Ig G mg/dL ×10 ²	Ig A mg/dL	Ig M mg/dL	Ig E mg/dL
7 days	52.03±4.59 a	31.10±0.00 a	43.27±1.49 a	0.42±0.08 a
21 days	32.99±7.70 b	31.10±0.00 a	86.97±0.61 b	0.75±0.05 a

Ig G: immunoglobulin G, Ig A: immunoglobulin A, Ig M: immunoglobulin M,

Ig E: immunoglobulin E, St con.: standard control.

All values are mean±SD(n=6).

Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05

표 3에서 보는 바와 같이 3분 레이저 치료한 결과 7일 치료군에 비해 Ig G는 21일 치료군에서 유의하게 감소하였다. Ig A는 7일이나 21일 치료군에서 거의 변화가

나타나지 않았다. Ig M은 7일 치료군에 비해 21일 치료군에서 유의하게 증가하였다. Ig E는 7일과 21일 치료군에서 거의 변화가 나타나지 않았다.

Table 4. the changes of the serum Immunoglobulin components on the treatment peroid(duration 4.5 min) of He-Ne IR laser

	Ig G mg/dL × 10 ²	Ig A mg/dL	Ig M mg/dL	Ig E mg/dL
7 days	34.40±10.72 a	31.13±1.69 a	48.13±1.69 a	0.53±0.05 a
21 days	35.07± 7.78 a	31.10±0.00 a	80.02±0.72 b	0.78±0.08 a

Ig G : immunoglobulin G, Ig A: immunoglobulin A, Ig M: immunoglobulin M.,

Ig E: immunoglobulin E, St con.: standard control.

All values are mean±SD(n=6).

Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05

표 4에서 같이, 4.5분 레이저 치료군에서 Ig G는 7일과 21일 레이저 치료군들 사이에서는 변화가 나타나지 않았다. Ig A도 7일과 21일 치료군들 사이에서 유의한 변화는 나타나지 않았다. Ig M은 7일 치료군에 비해 21일 치료군에서 유의하게 증가하였다. Ig E는 7일과 21일 치료군들 사이에 변화가 나타나지 않았다.

IV. 고 찰

화상을 입은 환자나 동물에서는 면역반응이 저하되어 있으며, 그 중에서도 세포성 면역능이 심하게 억제되는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 면역능의 억제는 감염에 매우 중요한 요인으로 보고되고 있다. 특히 화상에서 다양한 면역 기능의 감소를 보강시킬 수 있는 치료나 제제를 제공함으로써 억제된 면역기능을 회복시킬 수 있으며 화상으로 발생하는 패혈증 및 사망률을 줄이는데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다(Munster, 1976).

Han 등(1991)은 임파구가 체액성 면역과 세포성 면역에 중요한 매개체로서, 화상 후 그 수적 기능 변화를 측정하는 것은 억제된 면역기전을 이해하는데 가장 중요하고 간단한 방법이라고 보고하고 있다. Casson 등(1996)도 화상 입은 흰쥐의 흉관에서 채취한 임파구가 일시적으로 감소한다고 보고하였다. Han 등(1991)은 화상 후 10일내에 T-세포의 현저한 감소와 기능저하를 보고하였고, 화상과 외상을 입힌 생쥐의 말초혈액 임파구 수의 변화를 관찰한 결과, 외상 군에 비해 화상 군에서 더 오래 동안 임파구의 수적감소와 더불어 비장의 비대가 나타났다고 보고하였다. 또한 화상쥐에서 임파구

수는 화상 1일 수부터 감소하여 3일에 현저하게 감소하였으며, 7일부터 회복하기 시작하였으나 전반적으로 감소되었다고 하였다.

본 실험에서 대조군에 비해 화상쥐군에서 Ig G와 Ig M 등의 농도가 증가하였으나 유의성은 없었다. 7일 동안 레이저 치료군에서 3분 치료군에서 유의하게 증가되었음은 한1) 등과 상기 연구 보고들과 비교할 때 7일 후 정상농도로 회복하는데 레이저 치료가 효과적으로 촉진시켰다고 사료된다. 또한 21일(4.5분) 치료군에서는 대조군에 비해 화상군에서 유의하게 감소되었으며, 레이저를 치료한 군이 화상군보다 유의하게 증가하였으며, 특히 Ig M의 농도 변화는 대조군에 비해 화상군은 유의하게 감소되었으나 레이저 3분 치료군과 4.5분 치료군에서 유의하게 증가하였다. 이것은 상기 여러 연구보고에서 7일 이후 임파구 수적 변화가 정상으로 회복하였다는 보고와 일치하였다. 본 실험에서 레이저 치료군의 Ig M의 수적 증가로 미루어 볼 때 레이저는 급성 염증반응시 특수 질환 항원에 최초로 나타나는 항체로 알려져 있다 특히 과사 케양 치유과정에 보체활성 항체로써 관여하는 것으로 생각되는 Ig M의 변화에 크게 영향을 주는 것으로 사료된다. 특히 3분 치료군에서 7일 치료군보다 21일 치료군에서 Ig G나 Ig A는 오히려 유의하게 감소하였으나, Ig M과 Ig E는 유의하게 증가하였다. 이것은 상기 고찰된 내용과 더불어 레이저 치료는 7일 이후부터 과사 케양치유 과정에 보체활성 촉진항체로써 작용하는 것으로 사료된다. 또한 4.5분 치료군에서도 Ig M의 농도 증가변화는 7일 치료군보다 21일 치료군에서 두드러지게 촉진적으로 나타났다.

Ⅳ. 결 론

본 실험은 저에너지 레이저의 효과를 알아보기 위한 기초실험으로 면역글로불린의 농도 변화를 조사하였다. 권취에 3도 화상을 유발시켜 He-Ne IR 레이저로 7일과 21일 동안 3분과 4분 30초씩 조사하여 조사시간과 조사기간에 따른 면역글로불린의 농도변화를 비교 분석하여 얻은 결과는 다음과 같다.

Ig G는 대조군에 비해 화상대조군에서 유의하게 감소하였으나 7일 치료군에서는 화상군 과 4.5분 치료군에 비해 3분 치료군은 유의하게 증가하였다.

Ig M은 7일동안 치료군에서는 대조군에 비해 3분 치료군만 유의하게 감소되었으며, 21일 치료군에서는 대조군과 화상군에 비해 3분과 4.5분 치료군 모두에서 유의하게 증가하였다. 7일 치료군보다 21일 치료군에서 유의하게 증가하였다.

Ig E는 7일 치료군에서 대조군에 비해 화상군과 레이저군 모두에서 유의하게 감소되었다.

이상의 결과로 미루어 볼 때, 레이저 강도에 의한 치료가 화상위 상처치유 과정에 관여되는 혈청 면역글로불린 농도 변화에 의미가 있는 것으로 생각된다

< 참 고 문 헌 >

Ann So Youn : Effects of low-power laser and TDP on the cutaneous wound healing. D. thesis of the department of biology graduate school, Catholic university of Taegu, 1997.

Basford, JR, Hallman, PM, Sheffield, CG, Mackey, GL : Comparision of cold-quartz ultraviolet, low-energy laser, and occlusion in wound healing in a swine model. Arch. Phys Med Rehabi, 67:151-154, 1986.

Casson P, Soloway AC, Converse JM, Rapaport FT : Delayed hypersensitivity status of burned patients. Cited from Wood GW., Volence FT, Man MM, and Humphrey LJ. Clin. exp. Immunol. 31:291-298, 1996.

Goldman, L : Effects of new laser systems on the skin. Arch., Dermatol., 108: 385-390, 1996.

Han Ki Taek, et al : Changes of immune response by immune modulators in burn injury rats, 대한정형외과학회지, 18: 5-13, 1991.

Hershman MH, Sonnenfeld G, Logan WA, Pietsch JD, Wellhausen SR, and Polk HC : Effect of interferon treatment on the course of a burn wound infection. J. Interferon Research, 8: 367-374, 1988.

Johnson HM, Smith BG, Baron S : Inhibition of the primary in vitro antibody respons by interferon preparations J. Immunol, 114:403, 1975.

Kana, JS, Hutschenreiter, G, Haina, D, Waidelich, W : Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. Arch. Surg., 116:293-296, 1981.

Lievens, PC : The effect of I.R. laser irradiation on the vasomotricity of the lymphatic system. Laser in Medical Science, 6:189-191, 1991a.

Munster AM : Post-traumatic immunosuppression is due to activation of suppressor T cells. Lancet., I:1329,-1334, 1976.

McIrvine A, O' Mahony JB, Saporoschetz I, Mannick JA : Depressed immune response in burn patients. Ann Surg. 196:297-304, 1982.

Ninnemann JL, Fisher JC, Frank HA : Prolonged survival of human skin allografts following thermal injury. Transplantation, 25:69-75, 1978.

Rapaport FT, Converse JM, Horn L, Ballantype DL, Mulholland JH : Altered reactivity of skin homografts in severe thermal injury. Ann. Surg. 159:390-396, 1964.

Rochkind S, Rousso M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees G : Systemic effect of low-power Laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. Lasers Surg and Med., 92: 174-182, 1989.

Xi-Ming G, Tsi-siang S, Chin-Chun Y, Wei-Shia H : Changes in lymphocytes response to phytohemagglutinin and serum immunosuppressive activity after thermal injury. Burns, 10:86-93, 1983.

Yoon JH, Moon HB : The effects of macrophage on the wound heal-ing delayed by immunosuppression, J Surg, 46(1):10-21, 1994.