

2006년 2월

석사학위논문

흰쥐에서 Er:YAG laser에 의한 노출손상에 따른  
치수의 조직학적 변화 및 CGRP 단백질의 발현

조선대학교 대학원

치 의 학 과

양 재 호

흰쥐에서 Er:YAG laser에 의한 노출손상에 따른  
치수의 조직학적 변화 및 CGRP 단백질의 발현

*A histological changes and CGRP expression after  
exposure injury by Er:YAG laser in dental pulp of rat*

2006년 2월 일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

양 재 호

흰쥐에서 Er:YAG laser에 의한 노출손상에 따른  
치수의 조직학적 변화 및 CGRP 단백질의 발현

지도교수 김 홍 중

이 논문을 치의학 석사학위 신청 논문으로 제출함.

2005년 10월 일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

양 재 호

양재호의 석사학위 논문을 인준함.

|     |       |    |       |   |
|-----|-------|----|-------|---|
| 위원장 | 조선대학교 | 교수 | 박 주 철 | 인 |
| 위 원 | 조선대학교 | 교수 | 국 중 기 | 인 |
| 위 원 | 조선대학교 | 교수 | 김 흥 중 | 인 |

2005년 11월 일

조선대학교 대학원

# 목 차

|                                 |     |
|---------------------------------|-----|
| ABSTRACT .....                  | iii |
| I. 서 론 .....                    | 1   |
| II. 실험재료 및 방법 .....             | 4   |
| 1. 실험재료 .....                   | 4   |
| 2. 실험방법 .....                   | 4   |
| III. 실험결과 .....                 | 6   |
| 1. 치수손상 후 치수조직의 조직학적 소견 .....   | 6   |
| 2. 치수손상 후 치수신경에서 CGRP의 발현 ..... | 6   |
| IV. 총괄 및 고안 .....               | 8   |
| V. 결 론 .....                    | 11  |
| 참고문헌 .....                      | 12  |
| 사진부도설명 .....                    | 15  |
| 사진부도 .....                      | 16  |

# 도 목 차

|   |    |
|---|----|
| Fig. 1. Photomicroscopic view at 2 days after pulp exposure by conventional bur. (H&E) -----                                      | 16 |
| Fig. 2. Photomicroscopic view at 2 days after pulp exposure by Er:YAG laser. (H&E) -----  | 16 |
| Fig. 3. CGRP immunohistochemical localization in normal pulp (A) and at 2 days after pulp exposure by conventional bur (B). ----- | 17 |
| Fig. 4. CGRP immunohistochemical localization at 2 days after pulp exposure by Er:YAG laser. -----                                | 17 |

# *ABSTRACT*

## *A histological change and CGRP expression after exposure injury by Er:YAG laser in dental pulp of rat*

Yang, Jae-Ho

Advisor : Prof. Kim, Heung-Joong, D.D.S., Ph.D.

Department of Dentistry,

Graduate School of Chosun University

While Er:YAG laser is useful tool for caries removal and cavity preparation, the effect of laser treatment on pulp tissue remains unclear. The purpose of this study was to investigate histological changes and CGRP expression in the dental pulp after Er:YAG laser preparation compared with those after conventional bur preparation. 10 Sprague-Dawley rats were used in this experiment. Occlusal cavities were prepared in the upper first molars using either Er:YAG laser and conventional bur. At 2 days after cavity preparation, the teeth were processed for histological and CGRP immunohistochemical study.

The results were as follows :

1. The cavity floor by Er:YAG laser preparation was more irregular shape compared with those by bur preparation and there are some cracks in the directions of dentinal tubules.

2. There were more inflammatory cell infiltration and disruption of odontoblast in the dental pulp by Er:YAG laser preparation in comparison with the dental pulp of bur preparation.

3. CGRP expression in the pulp tissue by both Er:YAG laser and bur preparations were increased and higher than in the normal pulp. The expression pattern of CGRP was more strong in the pulp by Er:YAG laser preparation.

These results indicate that Er:YAG laser is useful in the operative dentistry such as caries removal and cavity preparation if properly applied.

Key words: Er:YAG laser, dental pulp, immunohistochemistry, CGRP



# I. 서 론

치수에서 일차적으로 받아들이는 감각은 통각으로, 정상상태에서는 유해수용성의 역치를 넘지 않으나 염증상태에서는 정상적인 열이나 기계적 자극에도 심한 동통을 유발한다. 염증과정과 치수신경 사이의 관계를 이해하는 것은 치과치료의 동통조절에 매우 중요하다. 치아우식증과 지속적인 자극은 치수내의 신경의 밀도를 증가시키며, 이들 말초신경섬유의 증가는 치수의 혈류증가와 염증의 조절을 통해 치아의 동통 인지에 중요한 요소로 작용한다<sup>9,15</sup>).

치수에는 많은 신경섬유가 존재하는데, 이들 신경섬유들은 주로 삼차신경의 구심성 감각신경과 위목신경절로부터 오는 교감신경의 분지들로 구성된다. 이들은 신경초로 둘러싸인 유수와 무수의 축삭돌기의 다발로 치근단구멍을 통하여 치수내로 들어가 치관부 치수에서 많은 가지들로 분지하며, 직경의 크기에 따라 가장 가는 C섬유(0.1~1.0 $\mu$ m), A-delta섬유(1~5 $\mu$ m)와 A-beta섬유로 분류된다<sup>2,9,15,17</sup>).

치수의 염증과 동통전달에는 여러 신경펩타이드들이 관여하는데, 지금까지 여러 연구자들에 의해 이들 신경펩타이드가 면역조직화학적 방법 등을 이용하여 치수내의 신경섬유에서 관찰되었다<sup>4,5,6,8,11,21</sup>).

1982년 Amara 등<sup>1)</sup>에 의해서 발견된 calcitonin gene-related peptide (CGRP)는 칼시토닌 유전자의 전사과정에서 alternative splicing에 의해 만들어진 variant mRNA를 주형으로 발현된 단백질에서 카르복실 말단부에 있는 37개 아미노산으로 구성된 폴리펩타이드이다. CGRP는 신경전달물질의 기능을 가지고 있는데 삼차신경절이나 척수신경절과 같은 감각신경절과 통각을 전달하는 C섬유와 A-delta섬유에만 존재하는 것으로 보아 통각의 전도에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 혈관확장 및 투과촉진, 대식세포와 백혈구의 기능조절, 염증반응 및 창상의 치유에도 관여한다<sup>8,11,21</sup>). Gazelius 등<sup>6)</sup>은 CGRP는 삼차신경절과 치수에서

널리 분포하여 substance P와 함께 통각의 전도에 중요한 역할을 담당한다고 하였다.

치수에 손상을 가한 다음 CGRP의 변화에 대한 연구들을 살펴보면, 치수노출 후 시간이 경과함에 따라 정상군과 비교하여 손상받은 치수의 신경섬유 말단에서 CGRP가 증가함으로 염증반응에 영향을 미치며<sup>3)</sup>, CGRP를 함유하는 치수의 감각 섬유는 치수 손상부위 근처의 치수에서 증가하고 감각신경을 제거하고 치수를 노출시켰을 때 치수조직의 소실을 촉진시킨다<sup>13)</sup>. Caviedes-Bucheli 등<sup>4,5)</sup>의 CGRP와 CGRP 수용체의 연구에 의하면 정상치아와 비가역적인 치수염의 치아 및 유도된 치수염을 가진 치아에서 CGRP의 발현을 관찰한 결과, 정상치아의 치수와 비가역적인 치수염을 가진 치아의 치수에서는 유의할 만한 차이를 보였으나 비가역적인 것과 유도된 치수염의 비교에서는 차이를 보이지 않았으며 CGRP가 치수염증을 조절하여 손상된 치수의 재생에 관여한다고 보고하였다.

최근에 와동형성 및 치아우식 제거 등의 다양한 목적으로 laser를 치아 경조직의 치료에 적용하기 위한 연구들이 진행되어 오고 있다<sup>10,12,18)</sup>. 그러나 laser로 경조직을 제거하기 위해서는 높은 에너지를 필요로 하게 되고 이에 따른 열의 발생에 의해 경조직의 미세균열과 치수세포에 손상을 유발시켜 치수괴사를 일으킬 수 있는 부작용을 가지고 있다<sup>7)</sup>.

위와 같은 문제점들을 해결하고자 최근에 Er:YAG laser가 개발되었다. Er:YAG laser는 법랑질이나 상아질을 삭제할 때, water spray와 함께 적용하면 다른 laser들 보다 열상증으로 인한 치수손상을 최소화 할 수 있는 장점을 가지고 있다<sup>19,20)</sup>.

Takamori<sup>19)</sup>는 Er:YAG laser가 conventional bur로 와동을 형성한 경우보다 CGRP의 더 빠른 증가를 보여, laser가 bur보다 치수의 수복을 더 빨리 유도한다고 하였으며, Inoue 등<sup>10)</sup>은 Er:YAG laser beam은 와동의 더 깊은 곳까지 침투하여 치수조직의 재생을 촉진한다고 하였다. 이에 대한 다른 시험들로는 Tanabe 등<sup>19)</sup>은 Er:YAG laser와 conventional bur를 이용하여 치수조직의 반응을 비교한 결

과 별다른 차이를 발견하지 못했으며, Geraldo-Martins 등<sup>7)</sup>과 Suzuki 등<sup>18)</sup>은 Er:YAG laser로 와동형성 시 심한 염증을 유도시키며 이에 따른 치수의 재생을 지연시킨다고 하였다.

본 연구에서는 Er:YAG laser와 conventional bur를 이용해서 치수에 손상을 가한 다음에 치수의 초기 조직반응을 형태학적으로 관찰하고 면역조직화학적 방법을 이용하여 CGRP의 발현을 연구하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

체중 250g 내외의 Sprague-Dawley계 10마리를 암,수 구별 없이 사용하였다. 실험에 사용된 laser는 250mJ, 5Hz의 Er:YAG laser(Fiedelis Plus<sup>R</sup>, Model 21-1AF, Fotona, Slovenia)를 사용하였다.

면역조직화학적 관찰을 위하여 일차항체로 polyclonal rabbit anti CGRP(Sigma, USA)를 사용하였고, ABC kit (Vector Laboratory, USA)를 이용하여 염색하였다.

### 2. 실험방법

#### (1) 치수손상 및 조직처리

Ketamine으로 마취하고 상악제1대구의 교합면에 #330 conventional bur와 Er:YAG laser(최대출력 15W의 비접촉 조사방식으로 초점거리는 7mm)로 와동을 형성하였다. 수복재료의 충전 없이 48시간이 경과한 다음, 4% paraformaldehyde 용액을 이용하여 관류고정을 하였다. 머리뼈를 적출하여 동일 고정액에서 하룻밤 동안 재고정하였다. 10% EDTA-1% paraformaldehyde (pH 7.4) 용액으로 4주간 탈회 후에 수세, 탈수 등의 과정을 거친 다음 파라핀으로 포매하여 8 $\mu$ m 두께로 관상으로 박절하였다. 박절한 절편은 H-E 염색을 시행하여 형태학적으로 관찰한 후, 면역조직화학적염색에 사용하기 위해 4 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

#### (2) 면역조직화학적염색

보관된 절편을 탈파라핀과 함수과정을 거친 다음에 0.6% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 함유된

methanol 용액에 20분간, 2% non fat milk로 20분간 순서대로 처리하였다. 일차 항체로 1:100의 비율로 희석한 polyclonal rabbit anti CGRP(Sigma, USA)를 4℃에서 하룻밤 처리하고 PBS로 20분 동안 3회 세척하였다. 이차항체로서 goat anti rabbit IgG (Vector lab. USA)를 실온에서 45분 동안 처리하고 PBS로 수세하였다. ABC kit (Vector lab. USA)를 이용하여 30분 동안 반응시킨 후 수세하였다. 0.05% DAB (deaminobenzidine tetrahydrochloride)를 이용하여 발색한 후, 수세와 건조 후에 봉입하여 광학현미경 하에서 관찰하였다.

### Ⅲ. 실험결과

Er:YAG laser와 conventional bur를 이용하여 와동을 형성하여 치수조직에 염증을 유도하였다. H&E와 면역조직화학적염색을 시행하여 관찰한 결과 다음과 같은 소견을 보였다.

#### 1. 치수손상 후 치수조직의 조직학적 소견

Conventional bur를 이용하여 삭제한 경우, 상아질 바닥면은 균열이 없는 평면의 균일한 모양을 보였다(Fig. 1-A와 3-B). 치수에서는 손상 받은 부위에 접하여 염증세포의 침윤을 보였으며, laser군에 비해서 염증의 범위와 정도가 약하였다(Fig. 1-B).

Er:YAG laser를 이용하여 삭제한 경우, 상아질의 면은 bur에 비해서 파동형의 불규칙적인 형태와 바닥면에서 상아세관의 주행방향을 따라 미세한 균열을 보였다(Fig 2-A와 4-A). 노출에 의해 손상 받은 치수에서는 혈관확장과 노출된 치수의 손상부위를 따라 bur에서 보다 더 많은 염증세포의 침윤과 상아모세포층의 파괴를 보였다(Fig. 2-B).

#### 2. 치수손상 후 치수신경에서 CGRP의 발현

Bur와 laser를 이용하여 손상 후에 치수신경 말단에서 CGRP 발현은 손상을 주지 않은 정상 치수에 비해서 증가된 양상을 보였으며, 그 증가된 정도는 laser의 경우에 더 강한 발현을 보였다(Fig. 3-A,B와 4-A).

Laser로 치수를 노출시킨 군에서 CGRP는 치수의 혈관을 따라 주행하는 말초 신경섬유와 노출된 치수부위의 상아모세포층 하방의 신경총부위에서 bur에서보다 강한 CGRP의 발현을 보였다(Fig. 4-A,B).

## IV. 총괄 및 고안

Er:YAG laser는 기존의 CO<sub>2</sub>나 ND:YAG laser가 가지고 있는 여러 단점 들을 보완하여 개발된 laser이다. 예를 들어 경조직을 제거하기 위해서 필요한 높은 에너지로 인한 열발생 때문에 경조직의 미세균열과 치수세포에 손상을 유발시키는 부작용을 최소화하여 범랑질이나 상아질을 삭제하는데 water spray와 함께 적용하면 다른 laser 들 보다 더 효과적으로 치수손상을 최소화 할 수 있는 장점을 가지고 있다<sup>7,19,20</sup>. 이에 따라 본 실험에서는 Er:YAG laser에 대한 상아질의 삭제형태와 치수의 반응을 연구하고자 Er:YAG laser와 conventional bur를 이용하여 와동을 형성하여 치수염을 유도하여 치수의 초기 조직반응과 신경반응을 비교 평가하였다.

Park 등<sup>16</sup>)은 Er:YAG laser와 bur를 이용하여 상아질을 삭제하여 와동바닥의 형태를 비교한 결과, bur의 경우 편평한 와동바닥을 관찰 할 수 있었고, laser의 경우에서 바닥은 둥근 원추형의 형태와 균열을 보였다고 하였다. 본 연구에서도 고속회전 핸드피스의 bur를 이용하여 삭제한 경우, 상아질 바닥면은 균열이 없는 평면의 균일한 모양을 보였다(Fig. 1-A와 3-B). Er:YAG laser를 이용하여 삭제한 경우에는 상아질의 면은 bur에 비해서 파동형의 불규칙적인 형태와 바닥면에서 상아세관의 주행방향을 따라 미세한 균열을 보였다(Fig 2-A와 4-A). 와동바닥이나 벽의 모양만을 비교한다면 수복재료에 따라 그 특징이 다르기 때문에 치료의 종류에 따라 서로 다른 장,단점을 가진다고 여겨진다.

치수의 조직반응에 대한 선학들의 연구를 살펴보면 Tanabe 등<sup>20</sup>)은 Er:YAG laser와 conventional bur를 이용하여 치수조직의 반응을 비교한 결과 별다른 차이를 발견하지 못했으며, Geraldo-Martins 등<sup>7</sup>)과 Suzuki 등<sup>18</sup>)은 Er:YAG laser로 와동형성시 심한 염증을 유도시키며 이에 따른 치수의 재생을 지연시킨다고 하였



다. Murray 등<sup>14)</sup>은 치수를 노출시에 치수를 노출시키지 않은 와동형성에서보다 치수의 염증정도를 심화시키는데 이는 치수노출에 따른 박테리아 침입으로 염증을 더욱 심화시킨다고 하였다. 본 실험에서는 Er:YAG laser를 이용하여 삭제한 경우, 노출에 의해 손상 받은 치수에서는 혈관확장과 노출된 치수의 손상부위를 따라 bur에서 보다 더 많은 염증세포의 침윤과 상아모세포층의 파괴를 보였다 (Fig. 2-B). 본 연구의 예비실험에서 치수를 노출시킨 다음, 여러 재료를 이용하여 수복을 한 경우에서 1~2주의 시간이 경과하면 치수의 괴사를 보였는데 이는 Murray 등<sup>14)</sup>의 연구와도 비슷한 결과를 보였다. 이는 교합면의 수복재가 탈락하여 치수의 감염이 심화되었다고 여겨지므로 앞으로는 실험의 목적에 따라 와동의 위치를 설면 또는 인접면 등에 위치시키는 것도 중요한 고려사항이라 생각된다.

치아우식증과 같은 지속적인 자극은 치수내의 신경의 밀도를 증가시키며, 이들 말초신경섬유의 증가는 치수의 혈류와 염증의 조절을 통해 치아의 동통 인지에 중요한 요소로 작용하므로 염증과정과 치수신경 사이의 관계를 이해하는 것은 치과치료의 동통조절에 매우 중요하다<sup>9,15)</sup>.

CGRP는 감각신경절과 통각을 전달하는 C섬유와 A-delta섬유에만 존재하는 신경펩타이드로 치수의 신경에 널리 분포하여, substance P와 함께 통각의 전도에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 혈관확장 및 투과촉진, 대식세포와 백혈구의 기능조절, 염증반응 및 창상의 치유에 관여한다<sup>6,8,11,21)</sup>.

치수에 손상을 가한 다음 CGRP의 변화에 대한 연구들을 살펴보면, Byers와 Taylor<sup>3)</sup>는 치수노출 후 시간이 경과함에 따라 정상군과 비교하여 손상받은 치수의 신경섬유 말단에서 신경CGRP가 증가함으로 염증반응에 영향을 미치며, Maltos 등<sup>13)</sup>은 CGRP를 함유하는 치수의 감각섬유는 치수 손상부위의 근처의 치수에서 증가하고 감각신경을 제거하고 치수를 노출시켰을 때 치수조직의 소실을 촉진시킨다고 하였다. Caviedes-Bucheli 등<sup>4,5)</sup>의 CGRP와 CGRP 수용체의 연구에 의하면 정상치아와 비가역적인 치수염의 치아 및 유도된 치수염을 가진 치아에서

CGRP의 발현을 관찰한 결과, 정상치아의 치수와 비가역적인 치수염을 가진 치아의 치수에서는 유의할 만한 차이를 보였으나 비가역인 치수염과 유도된 치수염의 비교에서는 차이를 보이지 않았으며, CGRP가 치수염증에 관여하여 손상된 치수의 재생에 관여한다고 보고하였다.

본 실험에서 laser와 bur를 이용하여 손상 후에 치수신경 말단에서 CGRP 발현은 손상을 주지 않은 정상 치수에 비해서 증가된 양상을 보였다(Fig. 3-A,B와 4-A). Laser로 적용한 경우에 CGRP는 노출된 치수부위의 상아모세포층 하방의 신경총부위에서 bur에서보다 강한 발현을 보였다(Fig. 4-A,B). Takamori<sup>19)</sup>는 Er:YAG laser가 conventional bur로 와동을 형성한 경우보다 CGRP의 더 빠른 증가를 보여 Er:YAG laser가 bur보다 치수의 수복을 더 빨리 유도한다고 하였으며, Inoue 등<sup>10)</sup>은 Er:YAG laser beam은 와동의 더 깊은 곳까지 침투하여 치수조직의 재생을 촉진한다고 하였다. 앞으로 CGRP의 발현증가가 창상치유와 수복을 촉진하는 지에 대해서는 여러 연구가 필요하리라 사료된다.

위의 연구들과 본 실험을 종합하면, 치아우식 제거 등과 같이 생활치수에 영향을 미치는 치료에 Er:YAG laser를 적용할 경우, 적절한 water spray를 사용하여 열발생으로 인한 치수 손상을 최소화 한다면 조직의 수복과 재생을 촉진하는 laser의 기능으로 치료효율을 높일 수 있으리라 사료된다.

## V. 결 론

본 연구는 Er:YAG laser에 의한 치수의 초기 조직반응과 CGRP 함유 신경섬유의 발현을 비교 평가하고자 시행되었다. Er:YAG laser와 conventional bur를 이용하여 와동을 형성하여 치수염을 유도한 다음, H&E와 면역조직화학적염색을 시행하여 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Conventional bur를 이용하여 삭제한 경우, 상아질 바닥면은 균열이 없는 평면의 균일한 모양을 보였으며, Er:YAG laser의 경우에는 상아질의 면은 bur에 비해서 파동형의 불규칙적인 형태와 바닥면에서 상아세관의 주행방향을 따라 미세한 균열을 보였다.

2. Ed:YAG laser에 의해 손상 받은 치수에서는 혈관확장과 노출된 치수의 손상 부위를 따라 bur에서 보다 더 많은 염증세포의 침윤과 상아모세포층의 파괴를 보였다.

3. 노출손상 후에 치수신경 말단에서 CGRP 발현은 bur와 laser군 모두에서 손상을 받지 않은 정상 치수에 비해서 증가된 양상을 보였으며, 그 증가된 정도는 laser의 경우에서 더 강하였다.

위의 결과들을 종합하면, Ed:YAG laser가 치수손상을 최소화하여 적용되면 치아우식 제거와 와동형성과 같은 여러 수복치료 시 유용하게 사용될 수 있으리라 사료된다.

## 참고문헌

1. Amara SG, Jonas V, Rosenfeld MG, Ong ES, Evans RM. "Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNA encoding different polypeptide product." *Nature* **298**:240-244, 1982.
2. Byers MR, Suzuki H, Maeda T. "Dental neuroplasticity, neuro-pulpal interactions, and nerve regeneration." *Microscopy Res Technique* **60**:503-515, 2003.
3. Byers MR, Taylor PE. "Effect of sensory denervation on the response of rat molar pulp to exposure injury." *J Dent Res* **72**:613-618, 1993.
4. Caviedes-Bucheli J, Arenas N, Guiza O, Moncada NA, Moreno GC, Diaz E, Munoz HR. "Calcitonin gene-related peptide receptor expression in healthy and inflamed human pulp tissue." *Int Endod J* **38**: 712-717, 2005.
5. Caviedes-Bucheli J, Camargo-Beltran C, Gomez-la-Rotta A, Moreno SCT, Abello GCM, Gonzales-Escobar JM. "Expression of calcitonin gene-related peptide(CGRP) in irreversible acute pulpitis." *J Endod* **30**:201-204, 2004
6. Gazelius B, Edwall B, Olgart L, Lundberg JM, Hokfelt T, Fischer JA. "Vasodilatory effects and coexistence of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and substance P in sensory neurons of cat dental pulp." *Acta Physiol Scand* **130**:33-40, 1987.
7. Geraldo-Martins VR, Tanji EY, Wetter NU, Nogueira RD Eduardo CP. "Intrapulpal temperature during preparation with the Er:YAG laser: An in vitro study." *Photomedicine Laser Surg* **23**:182-186, 2005.
8. Hargreaves KM, Bowles WR, Jackson DL. "Intrinsic Regulation of CGRP

- release by dental pulp sympathetic fibers." *J Dent Res* **82**:398-401, 2003.
9. Hargreaves KM, Goodis HE. "Seltzer and Bender's dental pulp." Quintessence, 3th edition, 2002.
10. Inoue H, Izumi T, Ishikawa H, Watanabe K. "Short-term histomorphological effects of Er:Yag laser irradiation to rat coronal dentin-pulp complex." *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **97**:246-250, 2004.
11. Kimberly CL, Byers MR. "Inflammation of rat molar pulp and periodontium causes increased calcitonin gene-related peptide (CGRP) and axonal sprouting." *Anat Rec* **222**:289-300, 1988.
12. Malmstrom HS, McCormack SM, Fried D, Featherstone JDB. "Effect of CO<sub>2</sub> laser on pulpal temperature and morphology: an in vitro study." *J Dentistry* **29**:521-529, 2001.
13. Maltos KLM, Menezes GB, Caliani MV, Rocha OA, Santos JMM, Alves DLF, Duarte IDG, Francischi JN. "Vascular and cellular responses to pro-inflammatory stimuli in rat dental pulp." *Arch Oral Biol* **49**:443-450, 2004.
14. Murray PE, Harez AA, Windsor LJ, Smith AJ, Cox CF. "Comparison of pulp responses following restoration of exposed and non-exposed cavities." *J Dentistry* **30**:213-222, 2002.
15. Nancy A. "Ten Cate's oral histology: development, structure, and function." Mosby, 6th edition, 2003.
16. Park IC, Lee CS, Lee NY, Lee SH. "Cutting efficacy of Er:YAG laser and conventional bur in deciduous and permanent teeth." *J Korean Acad Pediatr Dent* **30**:272-285, 2003.
17. Rodd HD, Boissonade FM. "Innervation of human tooth pulp in relation to

caries and dentition type." *J Dent Res* **80**:389-393, 2001.

18. Suzuki T, Nomura S, Maeda T, Ohshima H. "An immunocytochemical study of pulpal responses to cavity preparation by laser ablation in rat molars by using antibodies to heat shock protein (Hsp) 25 and class II MHC antigen." *Cell Tissue Res* **315**:311-319, 2004.

19. Takamori K. "A Histopathological and immunohistochemical study of dental pulp and pulpal nerve fibers in rats after the cavity preparation using Er:YAG laser." *J Endod* **26**:95-99, 2000.

20. Tanabe K, Yoshihara K, Yoshihara N, Iwaku M, Ozawa H. "Immunohistochemical study on pulpal response in rat molars after cavity preparation by Er:YAG laser." *Eur J Oral Sci* **110**:237-245, 2002.

21. Wakisaka S. "Neuropeptides in the dental pulp: distribution, origins and correlation." *J Endod* **16**:67-69, 1990.

## 사진부도설명

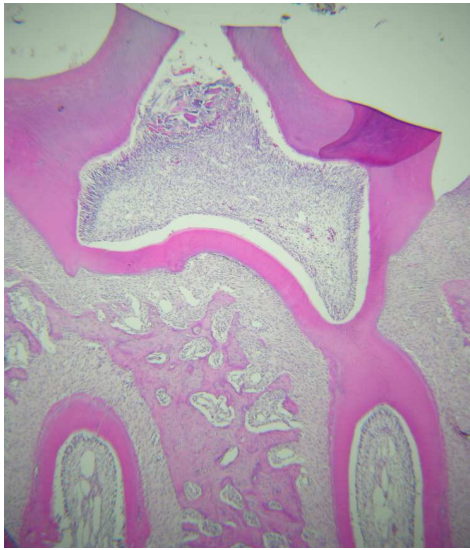
Fig. 1. Photomicroscopic view at 2 days after pulp exposure by conventional bur. The cavity floor is flat and regular shape (A) and inflammatory cell infiltrations are observed at the exposed site (B). (H&E) ----- 16

Fig. 2. Photomicroscopic view at 2 days after pulp exposure by Er:YAG laser. The cavity floor is more irregular shape compared with those by bur preparation and there are some cracks in the directions of dentinal tubules (A). Inflammatory cell infiltration and disruption of odontoblast are observed at the exposed site (B). (H&E) ----- 16

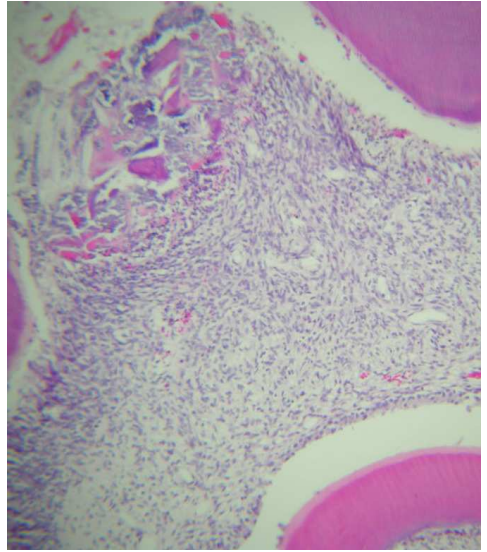
Fig. 3. CGRP immunohistochemical localization in normal pulp (A) and at 2 days after pulp exposure by conventional bur (B). CGRP positive fibers are observed in normal pulp (A) and at the exposed pulp by conventional bur (B). Expression patterns in pulp tissue by bur preparation were higher than those in the normal pulp. ----- 17

Fig. 4. CGRP immunohistochemical localization at 2 days after pulp exposure by Er:YAG laser. CGRP positive fibers are observed at the nerve fibers adjacent blood vessels and subodontoblastic layer (B). ----- 17

## 사진부도

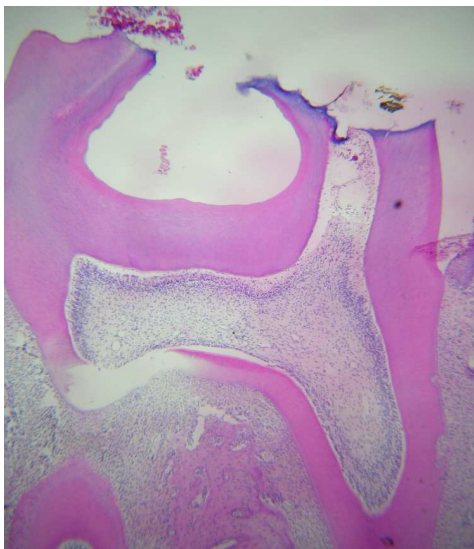


1-(A)

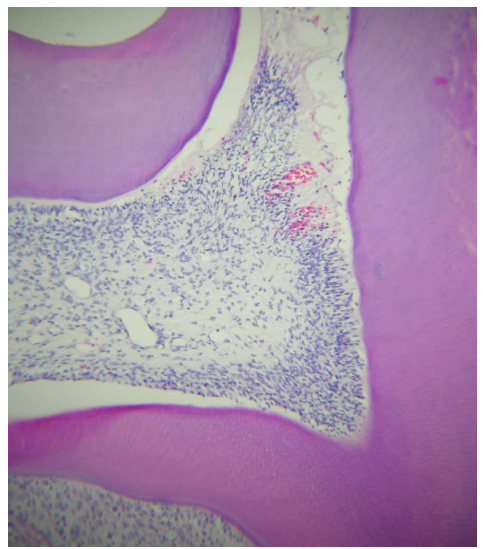


1-(B)

Fig. 1. Photomicroscopic view at 2 days after pulp exposure by conventional bur.



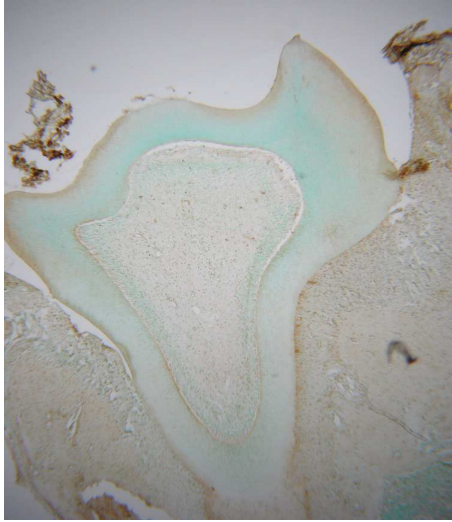
2-(A)



2-(B)

Fig. 2. Photomicroscopic view at 2 days after pulp exposure by Er:YAG laser.



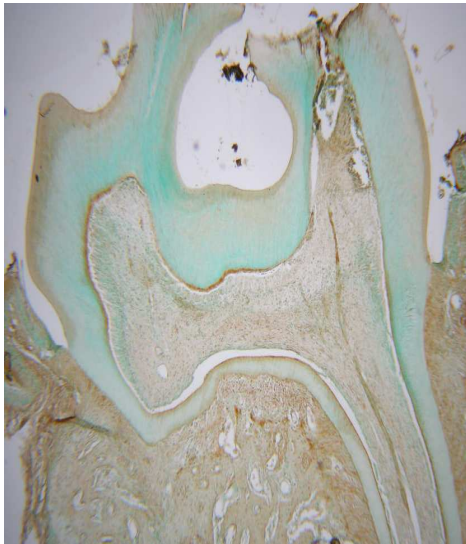


3-(A)

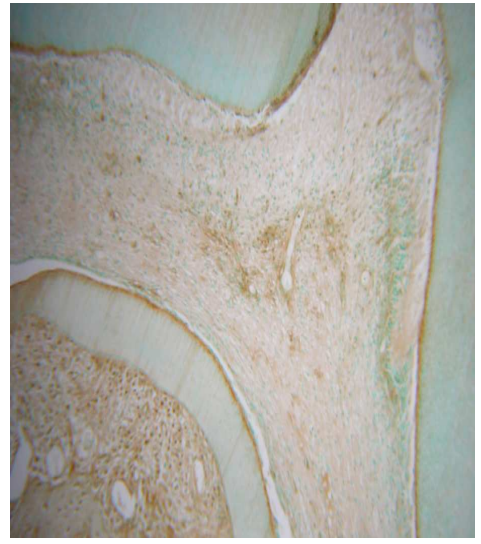


3-(B)

Fig. 3. CGRP immunohistochemical localization in normal pulp (A) and at 2 days after pulp exposure by conventional bur (B).



4-(A)



4-(B)

Fig. 4. CGRP immunohistochemical localization at 2 days after pulp exposure by Er:YAG laser.