



### 저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



**저작자표시.** 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



**비영리.** 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



**변경금지.** 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

**저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.**

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2007년 8월  
석사학위논문

임프란트 식립 후 골아세포에 대한  
저출력 레이저의 세포증식과 분화에  
관한 연구

조선대학교 대학원

치 의 학 과

오 민 석

임프란트 식립 후 골아세포에 대한  
저출력 레이저의 세포증식과 분화에  
관한 연구

The effect of low level laser irradiation on osteoblast cell  
proliferation and differentiation after implantation

2007년 5월 일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

오 민 석

임프란트 식립 후 골아세포에 대한  
저출력 레이저의 세포증식과 분화에  
관한 연구

지도교수 김 수 관

이 논문을 석사학위신청 논문으로 제출함

2007년 5월 일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

오 민 석

오민석의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교 수 임 성 철 인

위원 조선대학교 교 수 김 수 관 인

위원 조선대학교 교 수 김 학 균 인

2007년 5월 일

조선대학교 대학원

# 목 차

표 목 차 .....	i
도 목 차 .....	ii
ABSTRACT .....	iv
I. 서 론 .....	1
II. 실험 재료 및 방법 .....	3
1. 실험재료 .....	3
2. 실험방법 .....	3
3. 실험평가 .....	5
III. 실험 결과 .....	7
1. 조직학적 소견.....	7
2. 신생골 형성을.....	8
3. RT-PCR 분석.....	8
IV. 고찰 .....	9
V. 결 론 .....	12
참고문헌 .....	13
사진부도 설명 .....	16
사진부도 .....	18

## 표 목 차

Table. 1. Control group and experimental group.....	4
Table. 2. New bone formation rate between bone defect and implant area .....	8

# 도 목 차

Figure 1. AVANA GSII implant (OSSTEM, Pusan, Korea)	18
Figure 2. Low-level laser (Dens-Bio laser, TMC Korea)	18
Figure 3-A. Pre extraction state 1st, 2nd, 3rd, 4th premolar in dogs	18
Figure 3-B. Post extraction state 1st, 2nd, 3rd, 4th premolar in dogs	18
Figure 3-C. Extraction tooth in dogs	18
Figure 4-A. Pre-implant installation state mandible in dogs	18
Figure 4-B. Post implant installation state mandible in dogs (lateral)	18
Figure 4-C. Post implant installation state mandible in dogs (occlusal)	19
Figure 5-A. Photomicrograph of control group 1 (×40)	19
Figure 5-B. Photomicrograph of control group 2 (×40)	19
Figure 5-B. Photomicrograph of control group 3 (×40)	19
Figure 6-A. Photomicrograph of experimental group 1 (×40)	19
Figure 6-B. Photomicrograph of experimental group 2 (×40)	19
Figure 6-C. Photomicrograph of experimental group 3 (×40)	19
Figure 7. Photomicrograph of RT-PCR	20



## ABSTRACT

### **The effect of low level laser irradiation on osteoblast cell proliferation and differentiation after implantation**

Oh, Min-Seok

Advisor : Prof. Kim, Su-Gwan, D.D.S., M.S. D.

Department of Dentistry,

Graduate School of Chosun University

Purpose : The aim of this study was to investigate the effect of low-level laser therapy(LLLT) on the attachment, proliferation, differentiation by human osteoblast-like cells in implantation on dog mandible

Material and Method : Three adult mongrel dogs ,weight about 10~13kg, were used. Exposure strength of low-level laser was 904nm wave length, 0.3W out power. The lower 1,2,3 premolar were extracted and screw-type implant fixation after 8weeks. Then low-level laser was exposed during post implantation 1days during 2weeks. The dogs are sacrificed after 1weeks after exposure on low-level laser, for given a cell proliferation period.

Result : There was highly showed cell proliferation and cell attachment in experimental group and there was no significant difference between control group and experimental group at new bone formation ratio at implantation area after 2weeks.

Colclusion : In Vitro low-level laser therapy can modulate the activity of cells and tissues surrounding implant material.

# I. 서 론

저출력 레이저의 의학적 반응은 1970년대 헝가리의 Mester에 의한 치료에 도입된 이후 Plog에 의한 동통억제효과가 발표된 이래 최근에는 그 기전에 대한 연구도 진행되어 오고 있다. 레이저 치료적 응용에서 생체자극에 의해 조직을 부활시키고, 치료효과를 얻으려는 이용법이 주목되고, 소염, 진통, 창상 치유 촉진, 골로의 치유촉진 등의 임상적 효과가 확인되고 있다.<sup>1),2)</sup> 특히 골조직에서 골재생에 대한 효과가 최근 연구에서 보고되고 있다. 저출력 레이저는 골조직에서 염증을 조절하고 세포 분화를 증진<sup>3)</sup> 시키며 치유 촉진<sup>4)-7)</sup>을 시킨다.

이와 달리 고출력 레이저의 경우 골조직으로의 작용을 살펴보면, 골조직의 표면에 탄화층을 형성하여 치유 지연 현상이 나타나게 된다.

또한 악골내 임플란트의 성공을 위해서는 창상치유과정 과 골에서 유래된 세포의 임플란트 주위의 새로운 골의 형성에 대한 잠재력에 의존한다.

임플란트-골 접촉면에서의 골의 형성은 전신의 호르몬과 골의 세포에 의해서 생환되는 국소적인 요인에 의해 조절되는 복잡한 생리적인 과정이다.<sup>8)</sup> 그것은 골기질의 세포질의 부착, 증대, 분화, 침착같은 일련의 사건들과 관련된다.

변환 성장 인자 베타1(TGF- $\beta$ 1)은 창상치유에 대한 효과와 골의 형성과 흡수의 조절에 대한 잠재성을 가지고 있다. TGF- $\beta$ 1은 골형성세포 계통의 전구 세포의 복제를 자극하고 골-콜라겐 합성에 직접적인 자극 효과를 가지고 있다.<sup>9)</sup> 임플란트-조직 접촉면의 세포를 레이저 처치에 대한 노출시키는 것은 그들의 TGF- $\beta$ 1의 내인성 표현에 대한 영향을 끼칠 수 있고, 그것으로 인해 치유 과정을 조절하고 골 형성의 질을 증대 시킬수 있다.

그러므로 최선의 레이저 치료는 생산을 진전시키고 골 형성을 증대시키는 국소 요인들을 분비하게 해야 한다.

최근의 시험관 연구는 LLLT가 티타늄 임플란트 물질에서 human gingival fibroblasts들의 부착과 증식을 증가시키는 것을 보여준다.<sup>10)</sup> 그러나 임플란트 주위의 골 재생성을 위한 큰 임상적인 관련은 골 형성세포, osteoblasts의 반응이다. 임플란트 표면과 접촉할 때 osteoblast 같은 세포들은 구강의 fibroblast와는 다르게 활동한다.<sup>11),12)</sup> LLLT의 티타늄 임플란트 물질의 osteoblast의 부착과 증식에 대한 효과는 거의 알려져 있지 않다.

그러므로 최근 연구의 방향은, GaAlAs diode laser를 이용해, 사람 하악 치조골로부터 끌어 낸 osteoblast-like cell을 티타늄 임플란트 물질에 배양

시켜 TGF- $\beta$ 1의 초기 부착, 증식, 분화, 생산에 대한 특별한 관련과 LLLT에 대한 반응을 조사하는 것이다.

이 같은 상황등을 고려하여 본 실험에서는 임플란트 식립후 저출력 레이저 조사시 골아세포에 대한 세포증식과 분화에 관해 연구해 보고자 한다.

## II. 실험재료 및 실험동물

### 1. 실험재료

#### 1) 실험동물

동일한 조건하에서 사육한 12개월 된 체중 10~12kg 내외의 성견 3마리를 대상으로 하였다. 암수 구별은 없었으며, 건강상태는 모두 양호하였다.

#### 2) 임프란트

직경 3.5mm, 길이 10mm의 oxidized surface 처리된 Avana GSII 임프란트 (osstem, Busan, Korea) 18개를 사용하였다.(Fig. 1)

#### 3) 저출력 레이저

Dens-bio laser(TMC korea, Seoul, Korea)를 사용하였으며 wavw length 는 904nm이고 frequency는 pulse wave type은 5Hz에서 10,000Hz를 적용하였고 continupus wave type은 10Hz에서 100kHz를 적용하였다. 출력은 27 mW(≒0.3W)로 적용하였다.(Fig. 2)

#### 4) 실험 기구

임프란트 식립 후 실험군에 따라 저출력 레이저를 조사하였으며, 희생후 매몰한 조직을 조직절편으로 만들어 광학 현미경으로 관찰하였고 RT-PCR분석을 시행하였다.

### 2. 실험 방법

#### 1) 마취

Xylazine(Rompun®, Bayer Vetchem-Korea Co.)과 Ketamine(Ketara®),

유한양행) 2cc를 각각의 대퇴부에 근주로 전신마취 시킨 후 발거부위의 출혈 및 동통 방지를 위해 2% lidocaine을 이용해 침윤 마취 하였다.

## 2) 발치

각각의 성견에서 하악 제1,2,3,4 소구치를 발거하였고(Fig. 3-A,B,C), 10주의 치유기간을 부여하였다. 모든 군은 발치와 임프란트 매식 후 술후 감염을 방지하기 위하여 gentamycin을 5일간 2cc씩 근주하였다.

## 3) 임프란트 식립 및 레이저 조사

통상적인 치조정 절개를 시행하였다. 판막 거상은 협측 및 설측으로 연조직의 개재없이 임프란트 식립이 가능한 정도까지 시행하고 식염수 주수하에 임프란트를 식립하였다. 모든 임프란트는 submerged 시켰으며 식립 후 창상은 black silk를 이용하여 봉합하였다. 저출력 레이저는 Pulse wave type 으로 4분간 조사하고 Continuous wave type으로 1분간 조사하여 총 8J 로 레이저를 적용하였다. 성견의 하악 우측은 실험군으로 실험1군은 임프란트 식립 시 식립 부위 및 임프란트 표면에 저출력 레이저를 조사하였고 실험2군은 임프란트 식립 후 1주간 매일 저출력 레이저를 조사하였고 실험3군은 임프란트 식립 후 2주간 매일 저출력 레이저를 조사하였다.(Fig. 4-A,B,C) 성견의 하악 좌측은 대조군으로 대조1,2,3 군은 각각 실험 1,2,3군과 동일한 시기에 임프란트만 식립하고 주기적 관찰 후 실험군과 동일한 시점에 희생하였다.

Table. 1. Control group and experimental group

	좌측	우측
제1소구치	대조1군(즉시 식립 후 희생)	실험1군(임프란트 식립시 LLLT 조사)
제2소구치	대조2군(1주 후 희생)	실험2군(임프란트 식립 후 1주간 LLLT 조사)
제3소구치	대조3군(2주 후 희생)	실험3군(임프란트 식립 후 2주간 LLLT 조사)

#### 4) 희생

모든 개체는 실험 시행 후 7일간의 cell 분화기간 부여 후 희생하였으며 실험계획에 따라 식립 즉시, 식립 1주, 식립 2주 후로 나누어 희생하였으며 조직편을 채취하기 위하여 식립된 하악골을 절제하였다.

### 3. 실험 평가

#### 1) 조직형태계측학적 평가

임프란트 식립 후 4 주와 8주 뒤 신장 부위, 임프란트 주위의 골을 관찰했다. 임프란트 시편은 즉시 70% alcohol에 6일간 고정하였으며 알코올 세척을 통해 탈수시킨 후 glycolmetacrylate resin (spurr low-viscosity embedding media, Polyscience, Earrington, PPA, USA)에 포매하였다. 중합시킨 시편을 high-precision diamond disc(low speed diamond wheel saw 650, SBT, San clemente, CA, USA)를 사용하여 임프란트 장축 방향으로 200um 두께로 절단후 최종적으로 lapping and polishing machine(OMNILAP 2000, SBT, Sanclemente, CA, USA)을 사용하여 30um두께로 연마하였다. 각 임프란트당 1개의 슬라이드를 제작하여 Villanueva osteochrome bone stain(San clemente, CA, USA)을 시행 후 광학현미경(Olympus BX50, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 조직형태계측학적 평가는 임프란트 나사선내의 신생골의 충전율을 조사하였다(Fig. 13 신생골 충전율 = 신생골 형성 면적 / thread 밖 공간넓이 × 100 %). 계산된 결과를 토대로 통계학적으로 분석하였다.

#### 2) 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-PCR Analysis)

TGF- $\beta$ 1 mRNA의 발현 양상은 역전사 중합효소 연쇄반응(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR) 분석을 통해 시행하였다. 정상 대조군 및 실험군에서 포르말린에 고정하지 않은 나머지 조직을 즉시 액화질소에 급냉 시킨후 잘게 분쇄하여 Trizol을 첨가한 후 1/10배의 chlioiform으로 처리하여 상층을 분리하였다. 다음 동량의 isopropanol로 처리하여 pellets을 DEPC-70% ethanol로 세척한 후 건조시켜 DEPC-DW에 녹였다. RNA는 260nm에서 흡광도를 측정한 후 정량하여 역전사 반응을 시

키고, 그 반응액은  $1 \times$  RT buffer (Promega, USA),  $20 \mu\text{M}$  dNTP,  $0.25 \mu\text{g}$  oligo(dT)<sub>15</sub> primer, 5 units AMV (Avian Myoblastosis Virus) reverse transcriptase 및  $2 \mu\text{g}$  RNA에 DEPC-DW를 가하여 총량을  $10\mu\text{l}$  에  $1 \times$  PCR buffer,  $10 \text{ pmol}$  sense 및 antisense primer, 1unit Taq polymerase 및 증류수를 가하여 총량을  $25 \mu\text{l}$ 로 한 후  $58^\circ\text{C}$ 에서 30분간 처리한 후 다시  $92^\circ\text{C}$ 에서 15초,  $60^\circ\text{C}$ 에서 30초,  $72^\circ\text{C}$ 에서 30초간 30회 실시 한 후  $72^\circ\text{C}$ 에서 10분간 반응 시켰다. PCR 반응이 종료된 검체들에서 각 산물을  $5 \mu\text{l}$ 씩 취하여  $6 \times$  loading buffer (0.25% bromphenol blue)  $2 \mu\text{l}$ 와 혼합하여 2% agarose gel에  $100 \text{ V}$ 에서 30분간 전기 영동하고 ethidium bromide로 염색하여 자외선 투사기로 관찰한 다음 폴라로이드 카메라로 촬영하여 검사하였다.

### 3) 통계학적 분석

통계학적 분석은 Wondows 98의 SPSS 11 을 이용하였다. 실험군과 대조군의 유의적인 차이는 독립적 t-test 및 one way ANOVA로 조사하였다. 유의적인 수준은 ( $P < 0.05$ )로 설정하였다.

### III. 결 과

#### A. 병리조직학적 소견

##### 1. 대조군

###### a. 1주 소견 (Fig. 5-A)

골조직과 임프란트간의 염증성 결합 조직이 개재되었고 골아세포나 섬유아세포의 활동성이 증가된 양상은 보이지 않았다.

###### b. 2주 소견 (Fig. 5-B)

급성 및 만성 염증성 결합 조직과 미성숙 섬유아세포가 관찰되며 골 결손부 주위에서는 골아세포 및 신생골의 형성이 미약하게 보였다.

###### c. 3주 소견 (Fig. 5-C)

결합 조직의 염증은 감소 하였고 섬유 아세포의 밀집도가 증가하였다. 골 결손부 주위에서는 신생골의 층판골 형성과 골아세포가 증가하게 관찰되었다.

##### 2. 실험군

###### a. 1주 소견 (Fig. 6-A)

급성 및 만성 염증성 결합 조직이 골과 임프란트 간에 개재되어 있으며 미약한 섬유아세포의 출현이 관찰되었다.

###### b. 2주 소견 (Fig. 6-B)

만성 염증 세포가 골 결손부에 관찰되며 미성숙 섬유 아세포가 결합 조직에서 미약하게 관찰되었다.

###### c. 3주 소견 (Fig. 6-C)

골 결손부에서 신생골 층판 구조가 관찰되며 주위에 골아세포가 관찰되며 임프란트와 골 결손부간에 osteoid가 관찰되었다.



## B. 신생골 형성율

실험군과 대조군 사이에 신생골 형성율의 차이는 통계적으로 유의성이 없이 나타났고 공통적으로 2주군에서 증가한 양상을 보였다.

Table. 2. New bone formation rate between bone defect and implant area (  $p < 0.05$ , unit :  $\text{mm}^3$  )

대조 1군	0.0283±0.0236	실험 1군	0.0267±0.0326
대조 2군	0.1567±0.0322	실험 2군	0.1350±0.0288
대조 3군	0.6024±0.2363	실험 3군	0.6050±0.1480

## C. 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-PCR Analysis)

TGF- $\beta$ 1 mRNA의 발현 양상은 역전사 중합효소 연쇄반응(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR) 분석을 통해 시행하였으며 그 결과는 Fig. 7과 같다. Agarose gel 상에서 TGF- $\beta$ 1 mRNA의 발현 양상을 GAPDH mRNA의 발현 양상으로 보정한 결과도 그래프로 표시 하였다. 이 연구에서 TGF- $\beta$ 1 mRNA의 발현은 모든 실험군에서 미약하였다. 글나 저출력 레이저 조사를 2주간 시행한 군에서 대조군에 비해 높은 TGF- $\beta$ 1 mRNA의 발현 양상을 보였다.

## IV. 고 찰

골을 형성하는 세포, osteoblast의 성장과 분화는 dental implant 주의 골의 재형성에서 중요한 역할을 한다. LLLT에 의한 생체자극은 이런 세포들의 골 생성 가능성을 증대 시킨다고 제안되고 있다. 시험관과 생체 실험에서 긍정적인 보고가 있었음에도 골 치유에 대한 LLLT의 효과에 관한 몇몇 연구들의 결과는 예를 들어 다른 연구들이 레이저가 bone matrix 생성에 유의적인 자극을 준다는 데 반해 레이저 생체자극이 효과가 없다는 등 반박적이었다.<sup>13)</sup> 이러한 모순은 irradiation protocol 과 사용된 실험 모델의 다양함에 따른 것일 것이다.<sup>14)</sup>

생물학적인 관점에서 LLLT의 test system 으로서의 human oral diploid cell의 사용은 다른 조직과 종으로부터의 aneuploid cell lines 보다 신뢰할 수 있다. primary cell culture와 established cell line 과의 중요한 차이들 중에 하나는 후자의 제한되지 않은 성장의 가능성이다. 어떤 cell lines의 강력한 성질은 laser-induced effect를 가릴 수 있다.

Boulton 은 LLLT의 효과가 slow growing culture에서 더 잘 입증될 수 있음을 실험적으로 증명하였다.<sup>15)</sup> 그러나 established cell lines를 활용한 여러 연구에서 LLLT의 유의한 효과가 증명되었다.<sup>16)</sup>

이러한 primary culture 로 알려진 모델의 사용은 표현형의 변화의 가능성을 제한시킬 수 있다.  $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$  에서의 잠복기에 따르면 basal level과 비교할 때 osteocalcin 생산에 막대한 차이가 있었다.

LLLT에 대한 human osteoblast-like cell의 반응을 조사하기 위해 세포들은 titanium implant material에서 배양되었고 GaAlAs diode laser에 의해 조사되었다. 선택된 변수는 TGF- $\beta$ 1의 초기 부착과 증식 분화 생산이었다. 1, 3, 24h 후의 초기 부착은 조사된 세포에서 대조군보다 유의적으로 높았다. 48, 72h 후에 세포의 증식은 통계적으로 유의적이지 않았다. 그러나 96시간에서 증식은 조사된 세포에서 유의적으로 높았다. 이러한 결과는 Ozawa<sup>17)</sup> 그리고 Ueda등<sup>3)</sup>에서 의해 동의되었다. 그러나 이 연구에서 두 레이저 조사량간에는 유의적인 차이가 없었고,  $3 \text{ J/cm}^2$  의 범주의 양은 osteoblast-like cell의 초기부착과 증식에 더 이상 증대되지 않았다.

Alkaline phosphatase activity는 osteoblast 분화의 마커로 간주된다.<sup>18)</sup> Early progenitor cell은 ALP activity 를 발현시키지 못하지만 세포 분화의 나뉜진 숫자로서 규정지어지고, mature osteoblast phenotype을 극도로 발현한다, 그러므로 ALP activity 에 대한 레이저 치료의 효과는 골 형성의 레이저의 효과를 반증한다 할 수 있다.<sup>19)</sup> 이러한 데이터는 레이저를 사용한 두 그룹에서 유의적 차이를 보이지 않는다. 이러한 결과와 동일하게 Coombe 등<sup>13)</sup>은 human osteosarcoma에서 분리된 cell을 이용한 연구에서 ALP activity 가 레이저 조사에 의해 유의적으로 영향을 받지 않는다고 보고했다. 대조적으로 다른 연구들은 LLLT이후에 ALP 활성의 현저한 증가를 보였다.<sup>16),20)</sup> Ueda 등에 의한 최근 연구에서, fetal rat calvariae로부터 얻은 osteoblast-like cells에 Ga-Al-As diode laser(파장 830nm, power 출력 500mW, energy density 0.48~3.84J/cm<sup>2</sup>)를 적용하는 것이 현저하게 세포 증식, 골 결절 형성, ALP 활성, ALP gene 발현을 자극하였다고 보고하였다.<sup>3)</sup>

사람의 하악골로부터 얻어진 cell에 의한 Osteocalcin 합성과 TGF-β1 합성은 3J/cm<sup>2</sup>에 노출된 샘플에서 현저하게 컸다. 이것은 irradiation dose의 증가로 인한 osteoblast 분화의 가속화를 설명해줄 수 있는데, 이는 이러한 자극 효과가 용량 의존적이라는 사실을 암시한다. LLLT에 의해 노출된 세포에 의한 osteocalcin과 TGF-β1 생산의 현저한 증가는 아마도 파장과 용량의 선택과 같은 요인 뿐만 아니라 ATP 합성<sup>21)</sup>, 초기 osteoblastic differentiation<sup>22)</sup>, 성장 인자의 방출<sup>23)</sup>과 같은 세포성 활동을 가속화시키는 laser irradiation의 능력에도 의존할 것이라 사료된다.

상처 치유의 초기 단계에서 세포의 에너지 요구는 증가한다. 이러한 목적 때문에 LLLT 적용을 위한 적절한 용량은 osteoblast에 의한 TGF-β1 생산을 증가시키는 용량이 될 것이다.

이 연구에서 사용된 용량은 1-5J/cm<sup>2</sup>이 긍정적인 효과를 나타내는데 효과적이라고 밝힌 일부 이전 연구들의 용량과 유사하다.<sup>24),25)</sup> 우리의 연구는 3일 연속 3J/cm<sup>2</sup>의 용량으로 조사하는 것이 osteocalcin과 TGF-β1의 생산을 증가시킨다는 사실을 보였다. Ozawa 등과 Saito 등은 같은 LLLT parameter를 사용하여 골 형성의 자극 효과가 한번의 적용보다 3일 연속 조사함으로써 얻어진다고 밝혔다.<sup>17),26)</sup>

몇몇 레이저 시스템이 현재 조직 재생의 자극에 적용되고 있다. 기초적, 임상적 적용을 위한 적절한 레이저 치료를 선택하는 데 있어서, 각각의 기계의

속성을 주의깊게 평가하는 것은 중요하다.<sup>27)</sup> 본 결과는 GAA1A diode laser 를 사용한 LLLT가 osteoblast-like cell에 생체적으로 긍정적인 자극 효과를 가지며 세포 손상을 유발하지 않는다고 보고하였다. 세포 생활력은 모든 실험군에서 90% 이상이었으며 laser irradiation의 적용이 어떠한 명백한 손상을 유발하지 않았다는 것이 중요하다.

이러한 in vitro 연구와 우리의 현재 보고된 동물 실험은 LLLT가 골세포 대사에 있어 염증과 상처 치유와 관련된 factor의 생산을 자극함으로써 경조직-임플란트 integration을 강화한다는 사실을 보였다.<sup>4)</sup> 이러한 결과는 조직-임플란트 부위에 적절한 레이저 조사량을 정하고 임플란트 치료를 위한 laser regimen의 임상적 model의 발달에 기여하게 될 것이다.

## V. 결 론

저출력 레이저를 이용한 임프란트 식립 후 골아세포에 대한 세포 증식 및 분화에 대한 성견을 대상으로 한 실험을 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. TGF- $\beta$ 1 protein은 실험군과 대조군 모두 관찰되었다.
2. Growth factor인 TGF- $\beta$ 1 mRNA는 실험 2주군에서 잘 발현되었다.
3. 임프란트 주위의 신생골 형성율은 실험군과 대조군간에 통계학적인 유의성은 없었다.
4. 신생골 형성율은 실험군과 대조군 모두 2주군에서 높게 나타났다.

8J/mm<sup>2</sup>의 레이저에 노출된 실험군은 osteocalcin 과 TGF- $\beta$ 1의 생산을 유의적이게 증가시켰고 LLLT가 dose-dependent manner의 osteoblast-like cell의 분화를 자극한다고 유추할 수 있다. 결과적으로 저출력 레이저가 임프란트 주위의 세포와 조직의 활동을 조절한다고 볼 수 있으며, 초기 창상 치유 및 골아세포의 분화와 증식에 효과적으로 적용 가능하다.

## 참 고 문 헌

1. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med* 1985;5:31-9
2. Trelles MA, Mayayo E. Bone Fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers Surg Med* 1987;7:36-45
3. Ueda Y, Shimizu N. Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. *J Clin Laser Med Surg* 2003;21:271-7.
4. Khadra M, Ronold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanes HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Impl Res* 2004;15:325-32.
5. Ueda Y, Shimizu N. Pulse irradiation of low-power laser stimulates bone nodule formation. *J Oral Sci* 2001;43:555-60.
6. Silva Junior AN, Pinheiro ALB, Oliveira MG, Weismann R, Ramalho LMP, Nicolau RA. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. *J Clin Laser Med Surg* 2002;20:83-7.
7. Torricelli P, Giavaresi G, Fini GA, Guzzardella G, Morrone G, Carpi A, Giardino R. Laser diostimulation of cartilage: in vitro evaluation. *Biomed Pharmacother* 2001;55:117-20.
8. Canalis E. Regulation of bone remodeling. In : Favus MJ, editor. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996.p.29-34.
9. Bonewald LF, Mundy GR. Role of transforming growth factor beta in bone remodeling. *Clin Orthop Rel Res* 1990;250:261-76.
10. Khadra M, KAssem N, Lyngstadaas SP, Haanes HR, Mustafa K. Laser therapy affects initial attachment and subsequent proliferation of human oral fibroblasts cultured on titanium implant material. *Clin Oral Impl Res* 2005, in press
11. Mustafa K, Salva Lopez B, Hultenby K, Wennerberg A, Arvidson K. Attachments and proliferation of human oral fibroblasts to titanium

- surfaces blasted with TiO<sub>2</sub> particles . Clin Oral Impl Res 1998;9:195-207.
12. Mustafa K, Worblewski J, Hultenby K, Wennerberg A, Arvidson K. Effects of titanium surfaces blasted with TiO<sub>2</sub> particles on the initial attachment of cells derived from human mandibular bone. Clin Oral Impl Res 2000;11:116-28.
  13. Coombe AR, Ho CT, Darendeliler MA, Hunter N, Philips JR, Chapple CC, Yum LW. The effect of low level laser irradiation on osteoblastic cells. Clin Orthop Res 2001;1:3-14.
  14. Dortbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. Clin Oral Impl Res 2000;11:540-5.
  15. Boulton M, Marshall J. He-Ne laser stimulation of human fibroblastic proliferation and attachment in vitro. Laser Life Sci 1986;1:125-34.
  16. Kim KS, Kim JK, Kim SW, Lee JH, Kim YK, Ko SY, Shimizu M. Effects of low level laser irradiation (LLLI) with 9904nm pulsed diode laser on osteoblasts: a controlled trial with the rat osteoblast model. Laser Ther 1996;8:223-32.
  17. Ozawa Y, Shimizu N, Mishima H, Kariya G , Yamaguchi M, Takiguchi H, Iwasawa T, Abiko Y. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone formation in vitro. SPIE 1995;1984:281-8.
  18. Owen T, Aronow M, Shalhoub V, Barone LM, Wilming L, Tassinari MS, Kennedy MB, Pockwinse S, Lian JB, Stein GS. Progressive development of the rat osteoblast phenotype in vitro: reciprocal relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix. J Cell Physiol 1990;143:420-430.
  19. Hughes FJ, Collyer J, Stanfield M, Goodmas SA. The effects of bone morphogenetic protein-2, -4 and -6 on differentiation of rat osteoblast cells in vitro. Endocrinol 1995;136:2671-7.
  20. Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stage of cell culture in rat calvarial cells. Bone 1998;4:347-54.
  21. Karu T, Pyatibrat LV, Kalendo GS. Irradiation with He-Ne laser increases ATP levels in cells cultivated in vitro. J Photochem Photobiol B: Biol 1995;27:219-23.
  22. Lubart R, Wollma Y, Friedmann H, Rochkind S, Laulicht I. Effects of

- visible and near-infrared lasers and cell cultures. *J Photochem Photobiol B: Biol* 1992;12:305-10.
23. Yu W, Naim JO, Lanzafame RJ. The effect of laser irradiation on the release of bFGF from 3T3 fibroblasts. *Photochem Photobiol* 1994;59:167-70.
24. Kucerova H, Dostalova T, Himnialova L, Bartova J, Mazanek J. Low-level laser therapy after molar extraction. *J Clin Laser Med Surg* 2000;18:309-15.
25. Basford JR. Low-intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med* 1995;16:331-42.
26. Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *American J of Orthod Dentofacial Orthop* 1997;111:525-32.
27. Abelow SP. Use of lasers in orthopaedic surgery: current concepts. *Orthop* 1993;16:551-6.



## 사진 부도 설명

Figure 1. AVANA GSII implant (OSSTEM, Pusan, Korea)

Figure 2. Low-level laser (Dens-Bio laser, TMC Korea)

Figure 3-A. Pre extraction state 1st, 2nd, 3rd, 4th premolar in dogs

Figure 3-B. Post extraction state 1st, 2nd, 3rd, 4th premolar in dogs

Figure 3-C. Extraction tooth in dogs

Figure 4-A. Pre-implant installation state mandible in dogs

Figure 4-B. Post implant installation state mandible in dogs (lateral)

Figure 4-C. Post implant installation state mandible in dogs (occlusal)

Figure 5-A. Between implant to bone area engaged inflammatory connective tissue, no increasing activity in osteoblast and fibroblast

(Control group 1,  $\times 40$ )

Figure 5-B. acute and chronic inflammatory connective tissue was seen periimplant area, A few new bone was location at bone defect area

(Control group 2,  $\times 40$ )

Figure 5-C. Decreasing on connective tissue inflammation and increasing density on fibroblast. Increasing trabecular pattern at bone defect area.

(Control group 3.  $\times 40$ )

Figure 6-A. Between implant to bone area engaged inflammatory connective tissue, no increasing activity in osteoblast and fibroblast

(Experimental group 1,  $\times 40$ )

Figure 6-B. Chronic inflammation cell was seen from bone defect area and osteoblast cell was seen in peripheral area

(Experimental group 2,  $\times 40$ )

Figure 6-C New bone trabecullae was seen from bone defect area, osteoid was seen between implant to bone defect area

(Experimental group 2,  $\times 40$ )

Figure 7. Reverse transcriptase-polymer chain reaction, RT-PCR

## 사진 부도



Fig. 1

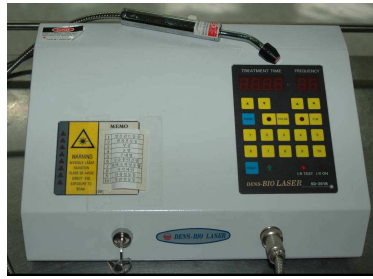


Fig. 2



Fig. 3-A

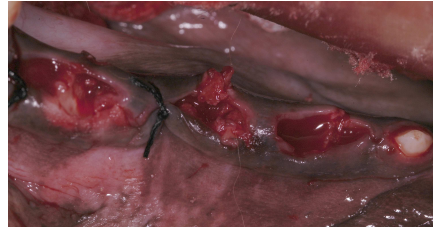


Fig. 3-B



Fig. 3-C



Fig. 4-A

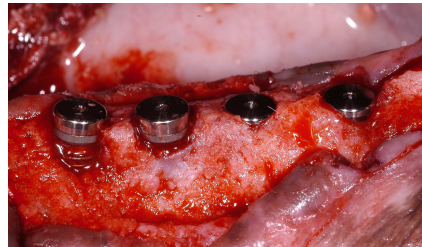


Fig. 4-B

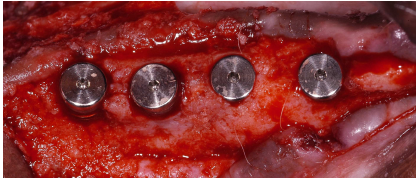


Fig. 4-C

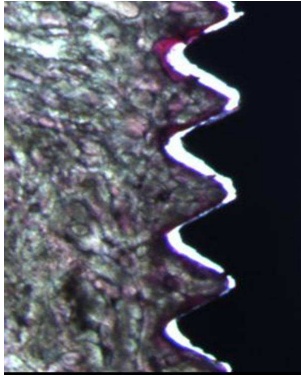


Fig. 5-A



Fig. 5-B



Fig. 5-C



Fig. 6-A

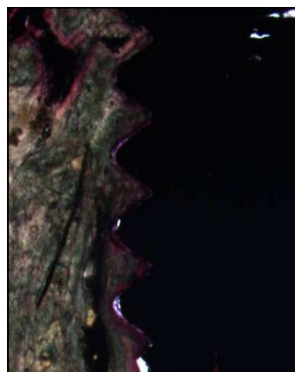


Fig. 6-B

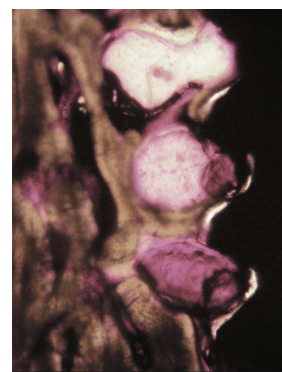


Fig. 6-C

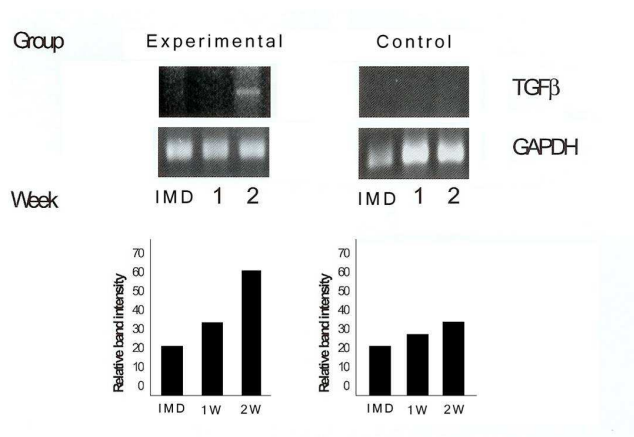


Fig. 7