이산화탄소 레이저가 인체 피부의 색깔변화, 박피 깊이 및 조직학적 반응에 미치는 영향

연세대학교 대학원

의과학사업단

성형외과학박사

김 진 왕

이산화탄소 레이저가 인체 피부의 색깔변화, 박피 깊이 및 조직학적 반응에 미치는 영향

지도 탁 관 철 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2000 년 12 월 일

연세대학교 대학원

의과학사업단

성형외과학박사

김 진 왕

김진왕의 박사 학위논문을 인준함

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

연세대학교 대학원

의 과 학 사 업 단

2000 년 12 월 일

감사의 글

본 논문을 완성함에 있어 시종일관 따뜻한 보살핌으로 지도해 주신 탁관철 지도교수님께 충심으로 감사를 드립니다.
아낌없는 도움말과 세심한 교정의 노고로 저의 연구를 격려해 주신 김덕원 교수님, 나동균 교수님, 정우희 교수님, 이민걸 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.
또한 힘들 때 옆에서 힘이 되어 주시고 격려해 주신 성형외과 및 피부과, 의학 공학과와 해부 병리학 교실원 및 전자 현미경실 여러분과 미국 레이저 의학회 임원들과 미국 레이저 전문의 협회 정회원 여러분께도 감사의 말씀을 전합니다.
평생을 갚아도 갚지 못할 은혜와 사랑을 베풀어주신 부모님과 가족에게 감사드리고 끝으로 끊임없는 사랑과 보살핌으로 지금까지 아낌없는 헌신적인 내조로 오늘이 있게 하여준 아내에게 감사를 보냅니다.

2000년 12월

저 자 씀

차 례

그림 차례

표 차 례

국 문 요 약

이산화탄소 레이저가 인체 피부의 색깔 변화, 박피 깊이 및 조직학적 반응에 미치는 영향

레이저 박피술을 인체에 적용함에 있어 조사하는 레이저 에너지 양에 따른 박피 깊이를 정확히 예측할 수 있는 지표를 설정한다는 것은 레이저 조사 후의 합병증을 예방하고 신속한 창상 치유를 예측할 수 있게 하여 준다는 관점에서 매우 중요한 의미를 갖는다.

본 연구에서는 인체 피부를 이용, 이산화탄소 레이저 조사 후의 박피 깊이, 이에 따른 색깔 변화와 조직학적 반응에 대하여 연구하였다.

안면 피부의 노화(aging face)로 주름살 제거수술을 받고자 하는 Fitzpatrick 피부 타입 VI 환자 10명에서 주름살 제거수술 전 절제 예정인 양측 이개 앞 피부에 Tru-Pulse™ 이산화탄소 레이저로서 500 mJoule의 에너지를 5mm 간격으로 위에서부터 아래로 한 변의 크기 3mm 되는 정사각형 내에 각기 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 조사하였다.

레이저 조사 직후 직경 3mm 측정 반경을 가진 분광 색측계를 이용하여 각 회의 레이저를 조사한 부위 및 정상 피부의 색도를 측정하고 동시에 일정한 거리에서 일정한 밝기의 카메라 flash 조명 하에 Ektachrome 100 plus professional color reversal 슬라이드 필름으로 촬영하였다. 이렇게 촬영한 필름은 Kodak 현상소에서 현상하였다. 현상되어 나온 슬라이드 필름은 Nikon coolscan III로서 스캐닝하고 그래픽 프로그램인 Adobe photoshop ™ 상에 올려 1 회부터 5 회 까지 레이저를 조사한 각 부위를 선택하여 R(red), G(green), B(blue) 색도와 색상(hue), 채도(saturation 혹은 chroma, %), 명도(brightness 혹은 value, %)와 함께 L*,a*,b* 색도 값을 기록하였다. 각 회수의 레이저 조사 부위 색 분석 값은 통계 프로그램으로서 그 평균치를 구하고 이를 한국 표준 색표집(한국방송공사, 1991)과 견주어 색 이름을 명명하였고 분광 색측계 측정과 슬라이드 필름의 이미지 분석을 통해 얻은 각 부위의 색값, 절대적 색차, 상대적 색비를 비교 분석하였다.

레이저 조사 후 분광 색측계를 이용한 색 측정과 슬라이드 필름 촬영을 마친 이개 앞 피부를 절제하여 Hematoxylin & eosin, Masson trichrome, Elastic van gieson 염색하여 광학 현미경 하에서 측면 열손상 정도, 콜라겐 섬유와 탄성 섬유의

배열 상태, 열 손상 정도에 따른 피하조직의 변화 등을 관찰하고 조직 손상의 정도는 digital camera가 부착된 image analyzer를 이용, 형태계측학적 방법으로 기록하였다.

레이저 조사 후의 특수 세포 침윤 활동을 관찰하기 위해 박절된 파라핀 포매 조직에 Labled Streptavidin Biotin Kit를 이용, 면역 조직화학 염색 후 각각의 특정 조직세포 발현도를 조사하였고 유두 진피 이하의 콜라겐 섬유 크기 변화와 콜라겐 섬유간 간격 변화 등을 투과 전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다

1. Tru-Pulse™ 이산화탄소 레이저 500 mJ로 정상 중년 여성의 귀 앞 피부를 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 조사했을 때 나타나는 피부의 평균 [L*, a*, b*] 색값은 각기 [60.98, 14.94, 4.67], [66.16, 13.06, 2.65], [63.34, 13.17, 4.56], [67.44, 12.36, 2.39], [63.86, 13.80, 4.41] 이었고 이때의 평균 색값을 관용 색 이름표와 대조하였을 때에 각기 분홍빛 적색(pinkish red), 밝은 회색(light gray), 균일한 회색(uniform gray), 옅은 회색(pale gray), 쎄무색 노랑(chamois yellow)으로 명명할 수 있었다.
2. 500 mJ로 1 회, 2 회, 3 회, 4 회, 5 회 조사했을 때 박피 되는 깊이는 각기 65.15±8.27㎛, 125.7±7.26㎛, 189.3±10.1㎛, 231.7±6.4㎛, 290.1±7.33㎛이었다. 이를 귀 앞 정상 피부와 비교했을 때 각기 표피 하부, 유두 진피 상부, 진피 중간층, 망상 진피 상부, 망상 진피 중간 부위에 해당되었다.
3. 레이저 조사 이후 피부 표면의 색깔 변화를 측정함에 있어 슬라이드 필름 촬영을 통한 컴퓨터 영상 분석과 분광 색측계에 의한 색 분석과는 그 결과가 동일한 양상으로 나타났으나 상대적 측정치인 색비 값 측정이 절대적 측정치인 색차 값 측정에 비해 오차 범위가 적었다.
4. 레이저 조사 시 Langerhan 세포는 1회 조사 시 약간 증가하였다가 그 이후 감소하였고 T-림프구와 단구는 초기에 같이 나타났다가 조사 횟수가 늘어남에 따라 T-림프구는 감소하였고 단구는 증가하였다. HMB45 염색상에서 레이저 조사 횟수가 증가함에 따라 현저한 멜라닌 색소체의 감소가 관찰되었다.
5. 콜라겐 섬유의 직경은 1회, 2회, 3회 조사했을 때 정상 피부에 비해 각기 0.1㎛, 0.02㎛, 0.02㎛ 증가 하였으며 그 이후의 변화는 없었다. 이는 레이저 조사 후 콜라겐 섬유 사이의 간격이 줄어듬으로 해서 피부 조직의 수축이 일어나고 있음을 의미하고 있었다.

6. 조직 내에 생긴 기포의 평균 크기는 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 조사했을 때 각기 8㎛^{2}, 11㎛^{2}, 12.6㎛^{2}, 14.5㎛^{2}, 16㎛^{2} 로서 조사 횟수가 늘어남에 따라 기포의 크기는 증가하였다.

이와 같은 연구 결과를 통하여 이산화 탄소 레이저를 이용한 인체 피부 박피 시 에너지 양에 따른 박피 깊이는 피부 각층마다 다르게 나타나나 이에 따른 색 변화는 비교적 일정하게 나타나 피부 색의 변화는 에너지 양에 따른 박피 깊이와 주변 조직의 손상 정도를 간접적으로 예측할 수 있는 유용한 지표가 될 수 있을 것으로 생각되고 이때 색차보다는 색비를 관찰하는 것이 측정값의 오차를 적게 하는 방법임을 확인하였다. 또한 레이저 조사 횟수 증가에 따른 과도한 멜라닌 색소체 감소 현상으로 미루어 보아 동양인에 있어서 과도한 레이저 박피는 창상 치유과정에서 피부 색소 체계에 변화를 가져올 수 있다고 사료된다.

핵심 되는 말 : 이산화탄소 레이저, 레이저 박피술, 레이저에 의한 박피 깊이, 레이저 박피 후의 피부 색 변화, 레이저 후 조직 반응, 색차와 색비,

이산화탄소 레이저가 인체 피부의 색깔 변화, 박피 깊이 및 조직학적 반응에 미치는 영향

<지도교수 탁관철>
연세대학교 대학원
의과학사업단
김 진 왕

I. 서 론

레이저 물리학의 발달로 연속파 레이저에 이어 펄스파 레이저(pulsed laser)와 초단파(short pulsed) 레이저, 극초단파(very short pulsed) 레이저가 개발되어 의학분야에 적용되고 있고 특히 이산화탄소 레이저(CO_2 laser)를 이용, 피부의 주름이나 병변을 제거하는 박피술은 현재 임상에서 널리 각광을 받고 있는 시술 중의 하나이다.[1,2]

레이저 박피술을 인체에 적용함에 있어 레이저 에너지에 의한 박피 깊이와 주변 조직의 열손상 정도는 매우 중요한 의미를 가진다.[3] 물리학적인 이론에 따르면 박피의 깊이는 감퇴 계수(attenuation coefficient)를 일정하게 보았을 때 이산화탄소 레이저 경우 조직 흡수도가 강해서 미씨 산란(Mie Scattering)에 의해 결정되고 $Pz=P_0E^{-AZ}$ 라는 함수로서 표현된다. 'P_Z' 는 처음 조사된 표면에서 Z만큼 떨어진 조직내의 잔존 출력이고 P_0 는 처음 피부 표면에 조사된 레이저 에너지의 출력을 나타낸다.[4] A는 감퇴 계수이고 E는 log 2.71828-을 나타낸다. 이렇게 하여 레이저 광선 에너지의 99%를 감퇴(attenuation) 시킬 수 있는 깊이가 흡광 깊이(extinction depth)가 되고 나머지 1%는 조직의 열 응고(thermal coagulation)를 유발하게 된다(그림 1).

이산화탄소 레이저 500 mJoule의 한 번 조사는 약 60 ㎛ 두께의 피부에 영향을 미치는 것으로 되어 있다.[4-6] 그러나 일정시간 이상이나 적정량 이상의 에너지를 조직에 조사하게 되면 제거하고자 목표하는 부위의 경계를 벗어나 열전도가 일어나게 되고 이는 창상 치유 지연과 반흔 형성의 위험성을 증가 시키게 된다.[3,6]

주위 조직의 손상을 예방하기 위해 최근에는 펄스파 레이저가 개발 되고 있으며 펄스파 레이저 중에서도 평면식과 곡면식 조사 방식에 따라 조직 손상의 정도가 현저히 차이가 나게 된다(그림 2). 최근에 개발된 Tru-Pulse®레이저는 메사형(Mesa mode) 레이저로서 고식적인 가우시안형(Gaussian mode) 레이저에 비해 측면 열손상이 거의 없다.[2,4]

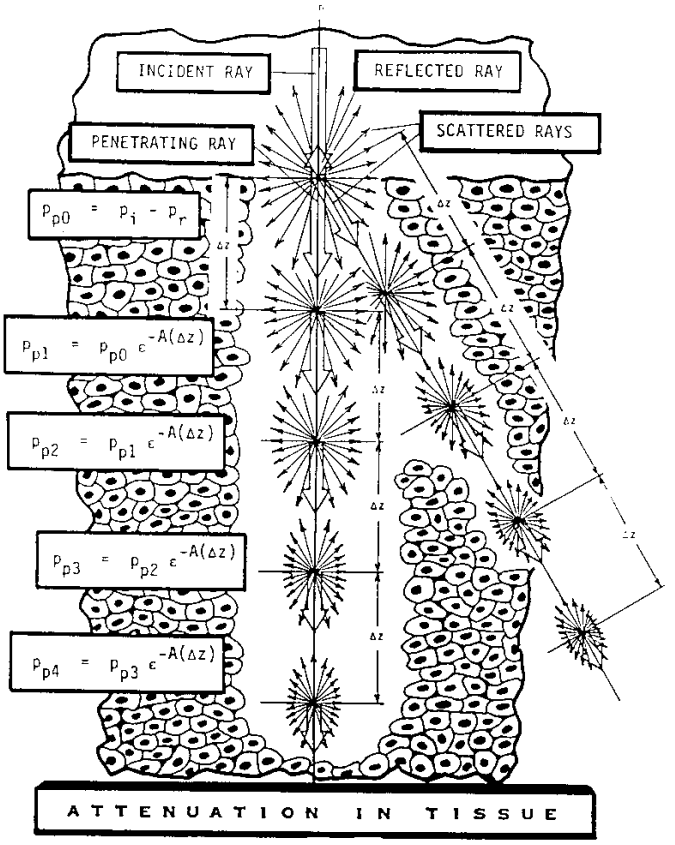

그림 1. 물리학적인 이론에 따른 박피 깊이의 산출. 박피의 깊이는 감퇴 계수(attenuation coefficient)를 일정하게 보았을 때 이산화탄소 레이저 경우 조직흡수도가 강해서 Mie Scattering에 의해 결정되고 $Pz=P_0E^{-AZ}$ 라는 함수로서 표현된다. P_Z 는 처음 조사된 표면에서 Z만큼 떨어진 조직내의 잔존 출력이고 P_0 는 처음 피부 표면에 조사된 레이저 에너지의 출력을 나타낸다. A는 감퇴 계수이고 E는 log 2.71828-을 나타낸다(Beer의 법칙).[4]

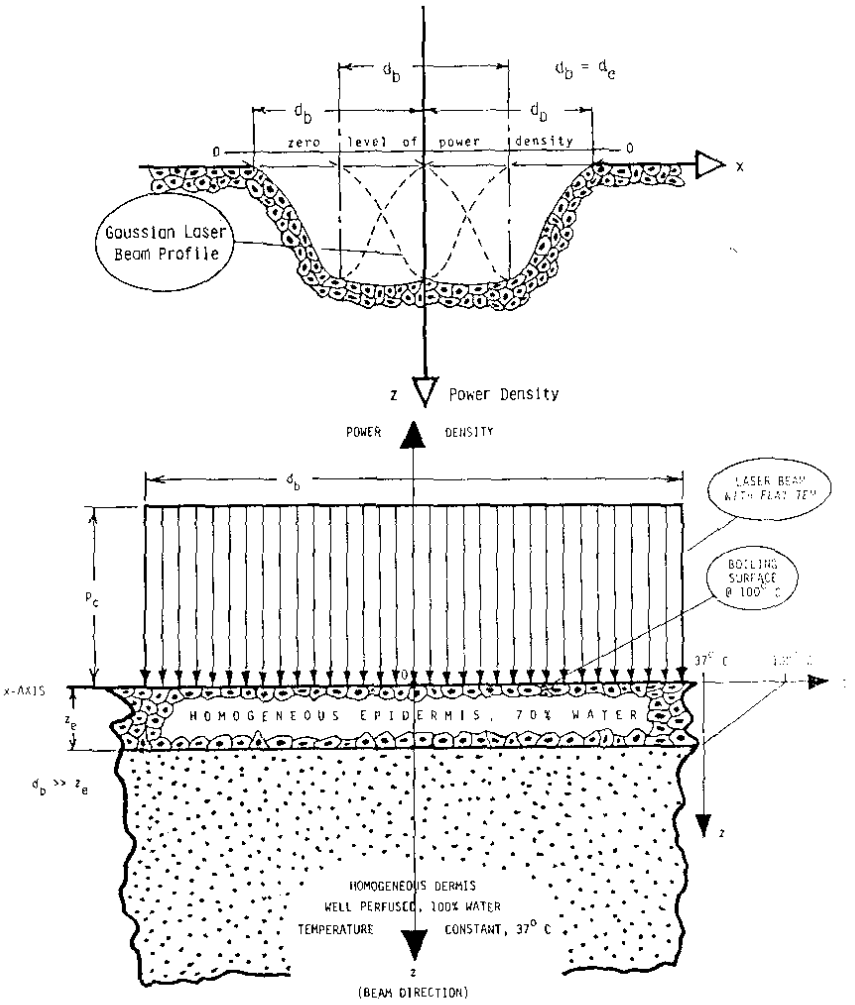

그림 2. 평면식과 곡면식 레이저의 조사 방식에 따른 조직 손상의 차이. Tru-Pulse™ 레이저는 메사형(Mesa mode) 레이저로서 고식적인 가우시안형(Gaussian mode) 레이저에 비해 측면 열손상이 거의 없다.[4]

이러한 여러 가지 이유로 레이저 박피술을 시행할 때 조사하는 에너지의 양에 따른 박피깊이를 정확히 예측할 수 있는 지표를 설정한다는 것은 레이저를 임상에 응용하는데 있어 합병증을 예방하고 신속한 창상 치유를 예측할 수 있게 하여 준다는 관점에서 지극히 중요하다.[2,4,7]

이제까지 밝혀진 레이저 조사에 의한 박피 깊이를 예측할 수 있는 지표로는 조사된 에너지량에 따른 피부 색깔의 변화가 있다. Apfelberg (1997)는 표피만 제거되었을 때에는 빨간 분홍색(reddish pink), 유두 진피 층이 제거되었을 때에는 균일한 회색(uniform gray), 망상 진피 층을 침범 하였을 때에는 노란 쎄무색 (chamois yellow)이 나타난다고 하였다.[8]

하지만 인체 피부에서 색깔 변화 자체만으로 레이저가 정확히 피부의 어느 층까지 침투 되었는가를 예측한다는 것은 쉽지 않고 인간의 눈에만 의존한 색차 값은 오차의 범위가 크고 한계가 있다.[9~12] 아울러서 살아있는 정상 인체 피부에서 레이저 효과를 직접 연구하기 위한 실험 대상을 구할 수 없었기 때문에 이에 대해 상세히 연구한 결과를 보고한 바는 없다.

본 연구에서는 레이저 조사 후 조직의 손상 정도와 깊이, 피부색 변화를 체계적이면서도 다원적으로 비교 분석하기 위해 인체 피부에 일정한 에너지의 레이저를 각기 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 조사하고 피부의 색깔 변화와 연관된 조직의 변화를 색차 분석학적, 형태학적, 형태계측학적, 조직학적, 면역조직학적, 전자현미경적 방법 등을 통해 규명하고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 레이저를 조사할 인체 피부 :

안면 노화(aging face)로 주름살 제거수술을 받고자 하는 10명의 Fitzpatrick 피부 타입 VI[6] 환자에서 승낙을 얻은 후 주름살 제거수술 전 절제 예정인 양측 이개 앞 (preauricular) 각기 4 x 1cm 피부에 Tru-Pulse™ CO_2 레이저(Tissue Technology Co., USA)로서 500 mJoule의 레이저 에너지를 위에서 부터 차례로 한 변이 3mm의 정사각형 크기가 되게 5mm 간격으로 조사하되 맨 위는 1 회, 그 아래로 2 회, 3 회, 4 회 조사하고 맨 아래에 5 회를 조사하였다 (그림 3, 4).

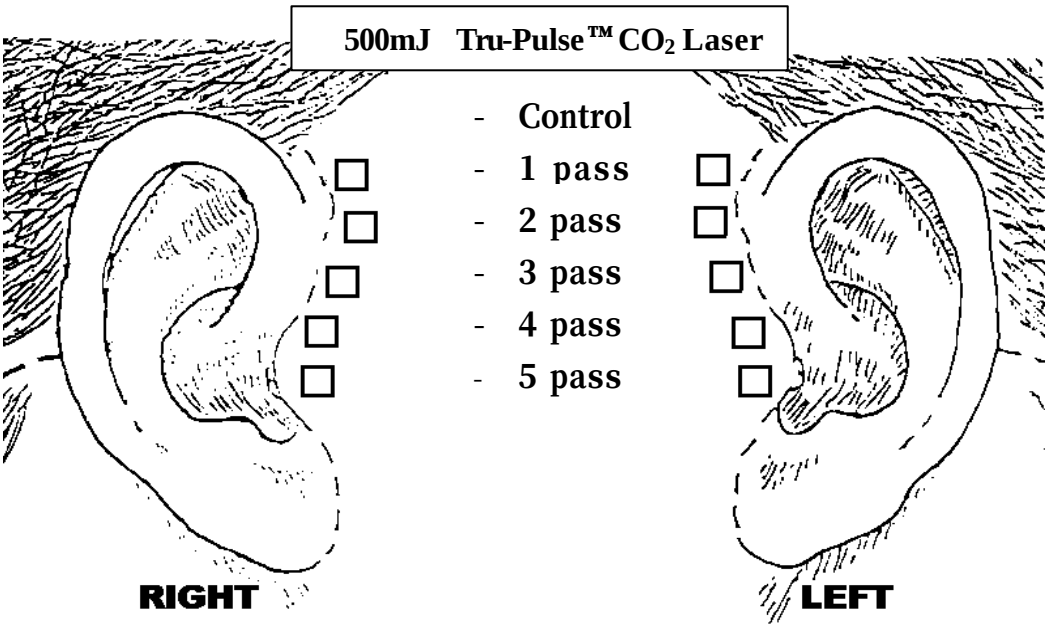

그림 3. 레이저 조사 위치 및 횟수. 안면 노화의 주름살 제거 수술을 받고자 하는 Fitzpatrick 피부 타입VI 환자 10명을 대상으로 500 mJoule의 레이저를 펄스 폭 60msec로 위에서부터 차례로 한 변이 3mm의 정사각형 크기가 되게 5mm 간격으로 조사하되 맨 위는 1 회, 그 아래로 2 회, 3 회, 4 회 조사하고 맨 아래에 5 회를 조사하였다.

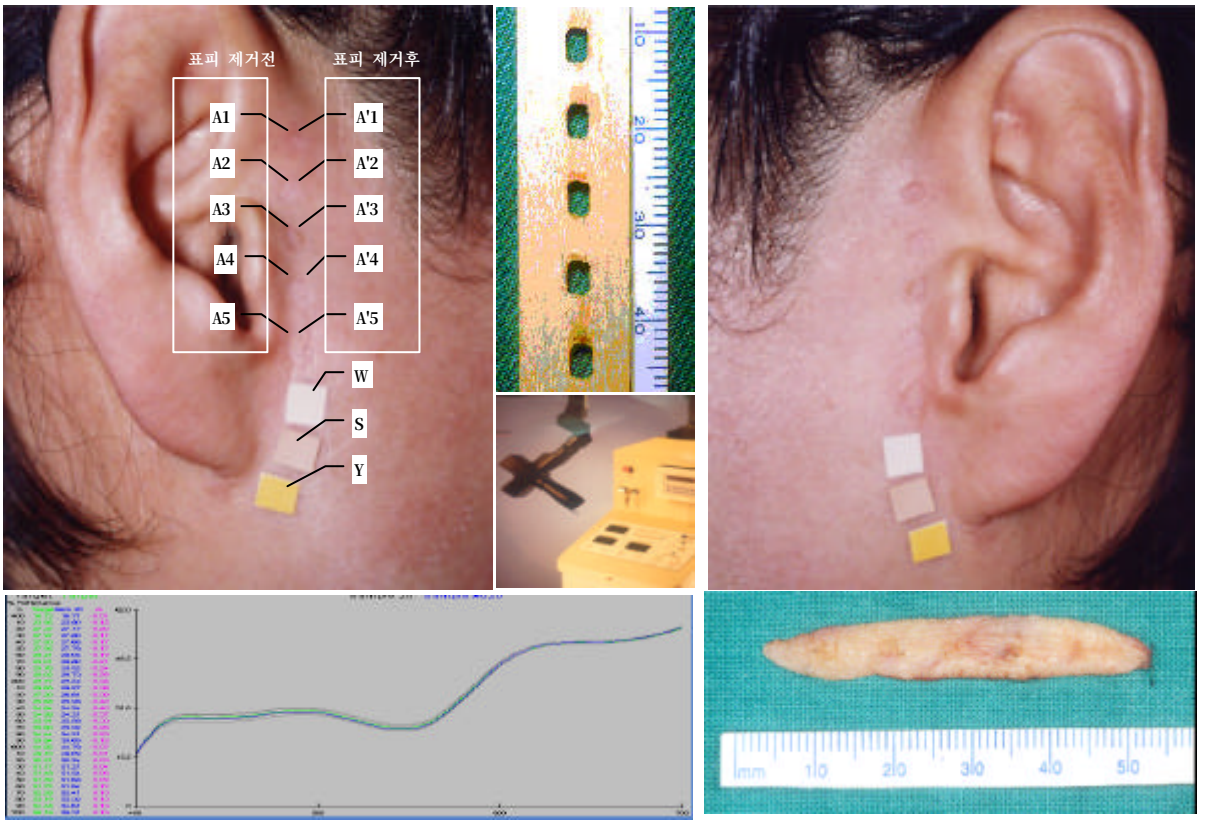

그림 4. 레이저의 조사 위치 및 횟수를 나타내는 사진(좌측 위). A1에서 A5는 레이저 박피 후 색을 나타내고 A1'에서 A5'는 그 각각에 대한 정상 피부 대조군이다. 사진 촬영 시 발생할 수 있는 색깔의 오차를 줄이기 위해 하방에 W(white), S(skin tape), Y(yellow)의 표준 색지를 부착하여 촬영하고 이를 calibration 시 의 표준치로 삼았다. Fitzpatrick 피부 타입 IV 환자에서 주름살 제거수술 전 절제 예정인 양측 이개 앞의 4 x 1 cm 피부에 Tru-Pulse™ CO_2 레이저로서 500 mJoule의 일정한 에너지를 위에서부터 차례로 직경 3 mm 크기로 1 회, 2 회, 3 회, 4 회, 5 회 조사하였다. 각 레이저 조사가 정확한 위치에 이루어 지도록 나무 압설자에 미리 5mm 간격으로 3mm x 3mm 크기의 구멍 5개를 뚫어 사용하였고 매회 조사 마다 젖은 거즈로 창상을 닦아 낸 후 다시 조사 하였다(가운데 위, 아래). 레이저 조사 후의 피부색과 모습(우측 위). 레이저를 조사하고 떼어낸 피부 조직(우측 아래). 분광 색측계로 측정하였을 때 나타나는 반사 spectrum곡선을 토대로 흡수 spectrum과 레이저 조사 후 정확한 색 측정(*L,*a,*b)을 이용한 정량적인 분석을 하였다(좌측 아래).

이렇게 함으로서 각 레이저 조사 횟수 당 20개의 검체를 확보하였다 (표 1).

표 1. 각 실험군의 구성

실험군	검체수	위치
Control	20	검체 상단 정상 피부
1 pass	20	맨 위의 1 pass 부위
2 pass	20	두 번째 2 pass 부위
3 pass	20	세 번째 3 pass 부위
4 pass	20	네 번째 4 pass 부위
5 pass	20	맨 아래 5 pass 부위

이때 개인간의 피부 기초 색깔과 수분 함량 차이에 의한 오차를 줄이기 위해 Fitzpatrick 피부 타입은 Spectrophotometer [9](Model Minolta CM503I, Minolta Co., Japan)로서 규정하여 Type IV 환자 만을 대상으로 하였다. 레이저 시술 전 전처치로 2주간 레이저 전처치 메디칼 스킨 케어(laser pretreatment medical skin care) 후 Hydrometer (Model MY707S, Scalar Co., Japan)로 측정하여 피부의 수분 함량 50% 이상인 경우만을 연구 대상으로 하였다.[2, 13] 또한 수술 전 pulse oxymeter를 이용하여 산소 분압이 100% 이상이면서 혈액 검사상 빌리루빈 농도와 간 기능이 정상인 사람을 선택하였으며 수술 2주전부터는 자극성 음식을 포함하여 아스피린이나 비타민 E 등을 섭취하지 않게 하였다. 수술 시 실내 온도는 21°C, 습도는 23%로 유지하여 일정한 환경 하에서 연구를 진행하였고 색깔 변화는 레이저 조사 직후 분광 색측계로서 직접 관찰하고[10], 동시에 카메라 촬영도 시행하여 추후 이를 현상하고, 현상된 필름을 스캐닝하여 비교 분석하였다.[14~18]

2. 색깔 변화 측정 :

레이저 조사 직후 직경 3mm 의 측정 반경을 가진 분광 색측계를 이용하여 즉시 색을 측정하고 동시에 일정한 밝기의 strobe flash 조명 하에 Ektachrome 100 Plus Professional Color Reversal Film (Kodak-EPP Film, Eastman Kodak Co., Rochester, NY)을 사용하여 Nikon 801s 카메라로 일정한 거리에서 양측 이개 앞 피부를 촬영하였다. 이렇게 촬영한 필름은 Kodak 현상소에서 현상하였다. 현상되어 나온 슬라이드 필름은 Nikon Coolscan III (Nikon Corporation, Tokyo, Japan)로서 스캐닝하여 그래픽 프로그램인 Adobe Photoshop™ (Adobe System Inc., Mountain View, CA)상에 올려 1 회부터 5 회 까지 레이저를 조사한 피부 부위를 각기 선택하고 각 부위의 R(red), G(green), B(blue) 색도와 색상(hue), 채도(saturation 혹은 chroma, %), 명도(brightness 혹은 value, %)와 함께 L*a*b* 색도 값을 기록하였다[11] (그림 5, 6). 각 회의 조사(pass)에 해당하는 색 분석 값은 spread sheet Excel 프로그램 (Microsoft, Redmond, WA)으로서 그 평균을 구하고 이를 한국 표준 색 표 집(한국방송공사, 1991)과 견주어 색 이름을 명명하였다.[19-22]

가. 색의 명명 (ISCC-NBS)

전미 색채협의회(Inter-Society Color Council)와 미국 국가표준국(National Bureau of Standard)의 색명법을 기준으로 하여 a*, b* 색값에 따라 한국방송공사 색상환에서 적합한 색을 명명하고 수식어는 기준 피부색에 비하여 명도와 채도가 증가하면 light, 명도가 증가하고 채도가 감소하면 pale, 명도와 채도가 다 감소하면 dark, 명도는 감소하고 채도는 증가하면 deep 이라는 서술어를 붙여 명명하였다.[9,20]

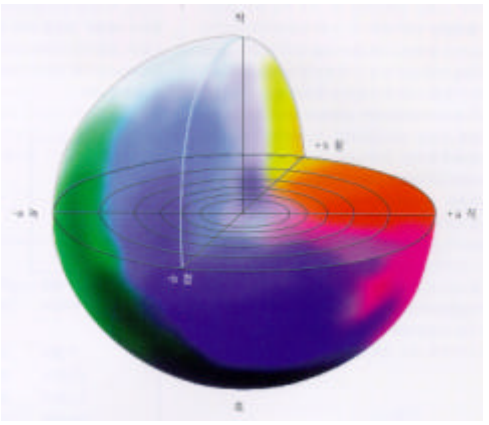

그림 5. 1976년 국제 조명위원회 (Commission International d'Eclairge)에서 발표한 3차원적 색도계 모델. L* : luminance 또는 밝기(lightness), a* : +a는 적색, -a는 녹색, b* : +b는 황색, -b는 청색을 나타낸다.[9]

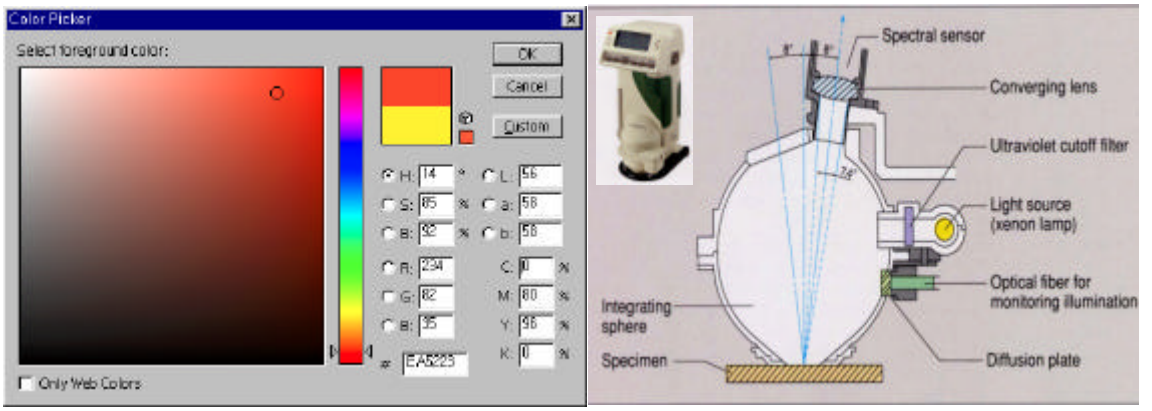

그림 6. 레이저 조사 후 찍은 슬라이드 필름으로 각 조사 후의 색깔 변화를 Adobe Photoshop™ 상에서 분석하는 화면. 1 회 부터 5 회 까지 레이저를 조사한 피부 색깔을 각기 선택하여 각 부위의 R(red), G(green), B(blue) 색도와 색상(hue), 채도(saturation 혹은 chroma, %), 명도(brightness 혹은 value, %)와 함께 L*,a*,b* 색도 값을 기록하였다(좌측). Spectrophotometer(우측 inset)와 reflection spectrophotometer의 측정 원리를 나타냄(우측).

나. 색의 비교 분석

색 분석은 분광 색측계를 이용한 직접 분석과 슬라이드 필름을 이용한 영상 분석을 동시에 시행 하여 각각을 비교하였다.

분광 색측계로 얻은 색의 분석을 위해서는 각 색값(E)의 평균과 표준 편차, 상대적 색차(ΔE)의 변화를 이용하였다.[23]

레이저 조사 전,후의 각 부위의 색값 $E = \sqrt{(L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2}$ 로 정의하였고 색차값 $E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$ 함수로 정의하고 이를 이용 절대적 색차를 분석하였다.

상대적 색값의 변화, 즉 색비의 변화는 E(A1)/E(A1')로 정의하여 색차의 변화를 분석하였다.

카메라로 찍은 슬라이드 필름도 같은 방법으로 분석하여 색측계로 관찰한 결과와 절대적 색차 값 및 상대적 색비 값을 비교 분석하였다.[12,14,24,]

3. 조직학적 검사 :

레이저 조사 부위의 사진을 찍은 이개 앞 4 x 1cm 크기의 피부를 절제하고 상하를 구별하기 위해 상단에 6-0 black silk 봉합사로 표시하였다.

절제된 피부 조직은 10% 포르마린에 고정한 후 파라핀에 포매 하였다. 포매 된 조직 표본은 다음과 같이 6개 군으로 나누어 5㎛ 두께로 박절하고 Hematoxylin & eosin, Masson trichrome, Elastic van gieson 염색하여 광학 현미경 하에서 측면 열손상(lateral thermal damage) 정도, 콜라겐 섬유와 탄성 섬유(elastic fiber)의 배열 상태, 열 손상 정도에 따른 피하조직(subcutaneous tissue)의 변화 등을 100배 확대하여 관찰하였고 특징적 소견들은 Kodak EPP Film으로 촬영하였다.

4. 형태계측학적 연구 :

Masson Trichrome 염색한 조직 표본을 digital camera(DMC,CO.USA)와 image spectrum이 장착된 Olympus 현미경(microscope)하에서 image analysis software인 Image-Pro 4.0 (Mediacyberkinetics, USA)을 이용, 각 군의 박피 된 두께 및 박피되어 떨어져 나가고 남은 잔여 피부층 중 열전도에 의해 콜라겐이 변성된 깊이를 기록하였다. 이 때에 대물렌즈는 X40배에 고정하였고 조직 표본 관찰 전 미세측정자(Micrometer)를 이용한 calibration을 통해 ㎛ 단위의 척도를 조정하였다 (그림 7).

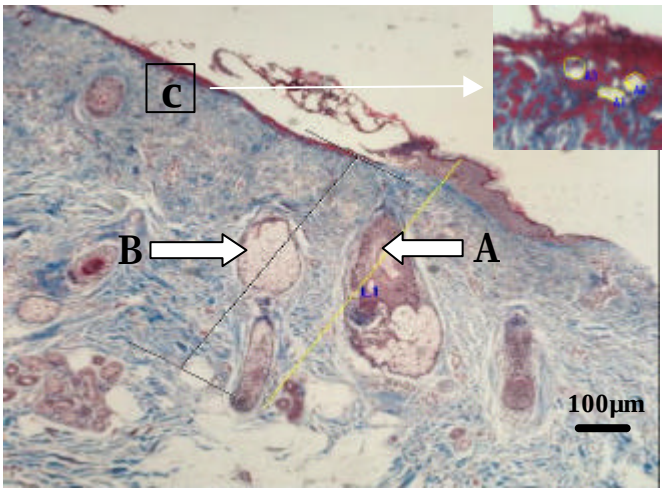

그림 7. 레이저에 의한 박피된 피부의 깊이 측정. 영상 분석계를 사용, 정상 깊이(A)와 박피된 부분의 깊이(B)를 0.3mm 간격으로 10군데 측정하여 그 차 A-B를 평균 내어 기록하였음. (Masson trichrome x 40). 레이저 광 폭발 현상에 의한 미세 기포 형성의 측정은 기포의 둘레를 컴퓨터 마우스로 커서를 이동 하여 표시한 후 기포(c)의 최대 직경 과 면적을 계산하였음. (Inset: Masson trichrome x 200).

5. 면역 조직화학적 연구 :

레이저 조사 후 특수 세포의 침윤이나 활동 등을 관찰하기 위해 파라핀 포매 조직을 4-5㎛ 두께로 박절하고 건조 시킨 후 탈파라핀 과정을 거쳐 면역조직화학 염색 시행 후 광학현미경 하에서 관찰하였다.

면역 조직화학 염색은 Labled Streptavidin Biotin Kit (LSAB Dako™ Kit, Fine Co., U.S.A.)를 이용하였고 염색 이후 각각의 특정 조직세포 발현도를 조사하였다.

1) Langerhans Cell을 보기 위한 S-100 :
   Dako™ code Z311을 1:300으로 Microwave 처리.
2) Monocyte와 Macrophage를 보기 위한 CD68 :
   Dako™ code M876을 1:75로 Microwave처리.

3) T-Cell을 보기 위한 UCHL :

Dako™ code M742를 1:75로 Microwave 처리.

4) B-Cell을 보기 위한 L26 :

Dako™ code M755을 1:40으로 Microwave 처리.

5) Leukocyte Common Antigen : LCA는

Dako™ code M7O1을 1:150으로 Microwave 처리.

6) Lysozyme :

Dako™ code A099를 1:100으로 enzyme pepsine 처리.

7) Merkel Cell을 보기 위한 Neuro Secretary Antigen (NSE) :

Dako™ code M873을 1:75로 Microwave 처리.

8) Melanocyte를 보기 위한 HMB45 :

Dako™ code M634를 1:100으로 Microwave 처리.

6. 전자현미경적 연구 :

유두 진피 이하의 콜라겐 섬유의 크기의 변화, 콜라겐 섬유 사이의 간격의 변화 등을 전자현미경으로 알아보기 위해 1, 2, 3, 4, 5 회 레이저를 조사한 각각의 군에서 2개씩의 1mm^3 크기 검체를 채취하여 2% paraformaldehyde, 2% glutaraldehyde 혼합액 (0.1M cacodylate buffer,pH7.3)에 고정 한 후 1% OSO_4 완충액으로 처리하여 탈수하고 propylene oxide로 치환한 다음 통상적인 조직 처리 과정에 의하여 Epon-812에 포매하였다. 포매된 조직은 MT-2B Ultramicrotome을 사용하여 초박 절편하고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과 전자현미경(Philips CM10, Netherlands)으로 80 Kv 가속 전압 하에 관찰 하였다.

7. 통계 분석 :

모든 데이터의 상관관계와 통계학적 유의성은 paired Student's *t* test 와 SPSS 프로그램을 이용한 Kruskal-Wallis test 및 one-way ANOVA를 이용하여 분석하였다.[36,37]

III. 결 과

1. 색깔 변화의 측정과 비교 분석

가. 정상 대조군 간의 색 차이

색측계로 얻은 색 분석 결과 정상 대조군 각 영역에 대한 색의 평균값은 영역 간 색차가 없음을 확인하였다 (그림 8).

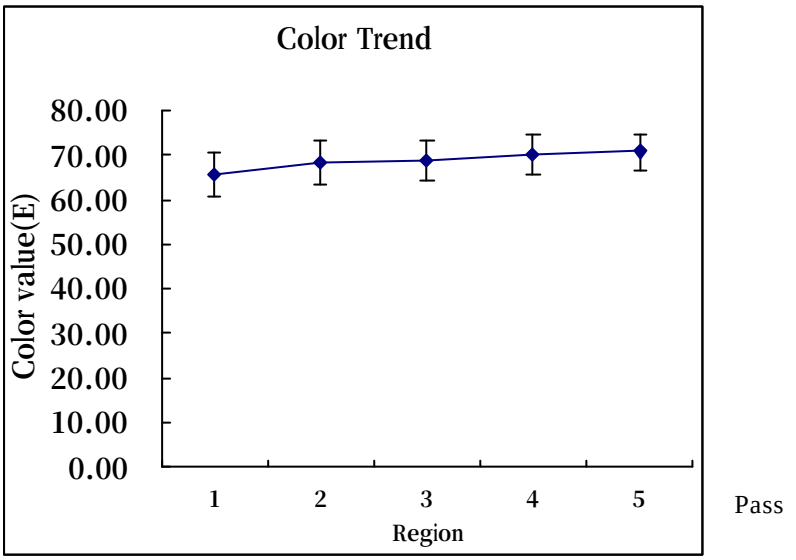

그림 8. 레이저 조사 전의 각 pass 영역별 정상 피부의 색값(E) 평균치. 표피 제거 전 정상 피부의 영역별 색차는 없었다.(p<0.01)

나. 각 pass 간의 색 차이

각 영역별 L*, a*, b*와 색값(E)의 평균값은 표 2 와 그림 9 와 같다.

표 2. 각 영역별 L*, a*, b*와 색값(E)의 평균값

레이저조사(회)	L*	a*	b*	색값 (E)
1 회	60.98±2.87	14.94±2.33	4.67±1.94	63.04±2.60
2 회	66.16±2.56	13.06±2.37	2.65±2.11	67.57±2.35
3 회	63.34±3.07	13.17±2.07	4.56±1.70	64.95±2.67
4 회	67.44±2.08	12.36±2.63	2.39±1.87	68.69±1.78
5 회	63.86±3.06	13.80±2.79	4.41±2.40	65.61±2.54

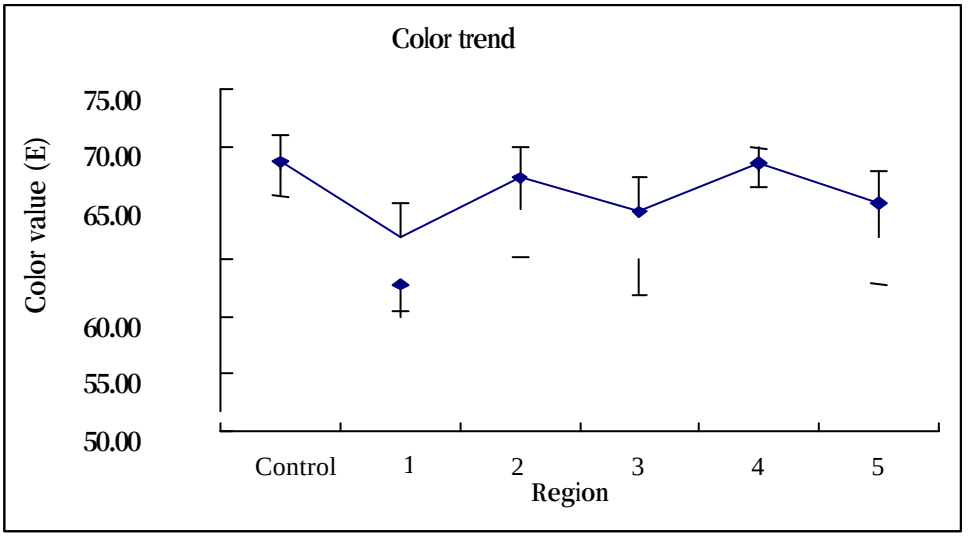

그림 9. 레이저 박피 후 각 영역의 색값(E) 평균치. 영역별 색값 비교에서 감소, 증가, 감소, 증가, 감소의 형태로 나타나 영역 간 색값은 확실한 차이를 보였다. ($p < 0.01$)

각 영역별 평균 색차 값 E(A1-A1')와 색비 값 E(A1)/E(A1')의 분석 결과는 표 3 과 같다. 색차 값(그림 10)과 색비 값과의 비교 분석(그림 11, 12)에 있어 상대적 측정치인 색비 값 측정이 절대적 측정치인 색차 값 측정에 비해 훨씬 오차 범위가 적음을 알 수 있다 ($p<0.05$).

표 3. 각 영역별 평균 색차 값과 색비 값의 분석

조사(회)	색차 값 E(A1-A1')	색비 값 E(A1)/E(A1')
1 회	5.88±1.83	1.04±0.04
2 회	3.90±1.73	1.01±0.03
3 회	5.11±1.12	1.06±0.02
4 회	4.0± 1.46	1.02±0.04
5 회	7.45±3.7	1.08±0.05

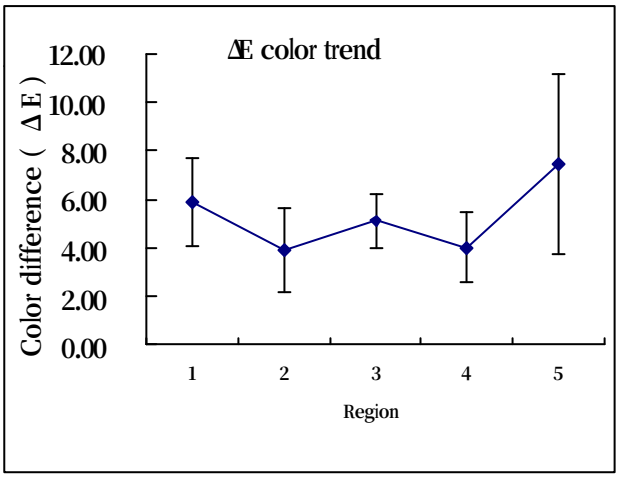

그림 10. 레이지 시술 전과 후의 절대적 색차 값 차이 (ΔE). 각 pass 간 현저한 색차 값의 차이를 보였다 (p<0.01).

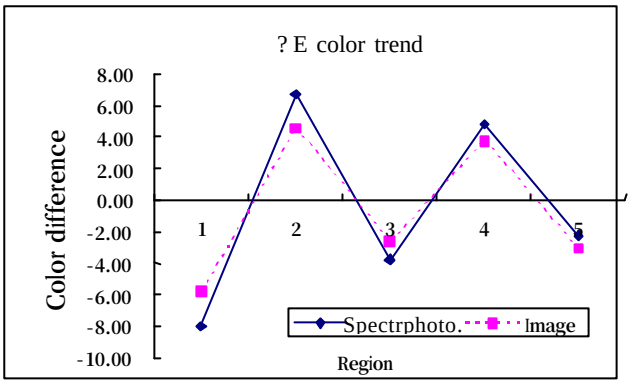

그림 11. 분광 색측계 측정과 슬라이드 필름 측정을 통해 얻은 절대적 색차값 E(A1-A1')의 비교. 색차 값 사용 시 측정 방법에 따라 동일 부위 색값에 상당한 차이가 있었다 (p<0.01).

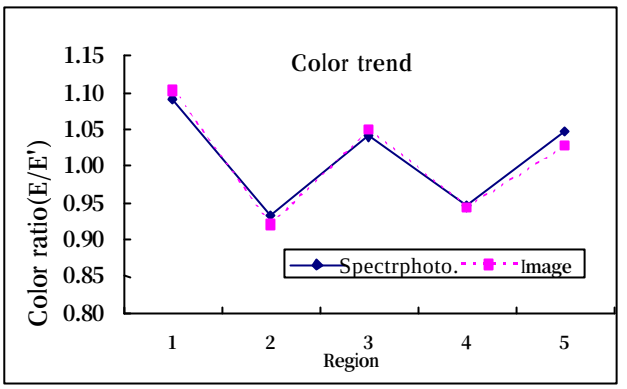

그림 12. 분광 색측계 측정과 슬라이드 필름 측정을 통해 얻은 상대적 색비 값 E(A1)/E(A1')의 비교. 두 측정 방법에 의해 얻은 결과는 일치하였다 (p<0.01).

분광 색측계를 사용하는 방법과 카메라로 찍은 슬라이드 필름 영상을 이용하는 방법을 ΔL*, Δa*, Δb* 값으로 비교하였을 때에도 그림 11의 절대적 색차 값 E(A1-A1')의 분포와 동일한 분포를 보였다 (그림 13, 14, 15).

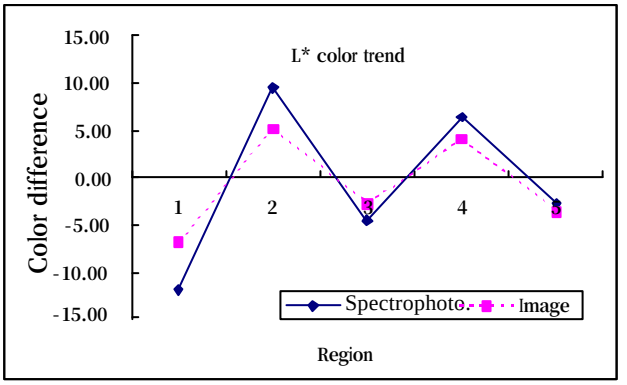

그림 13. 분광 색측계 측정 방법과 슬라이드 필름 측정 방법을 이용한 L* 값의 차이(ΔL) 비교. 각 영역간에 차이가 있고 측정 방법에 따라서도 차이가 있다(p<0.01).

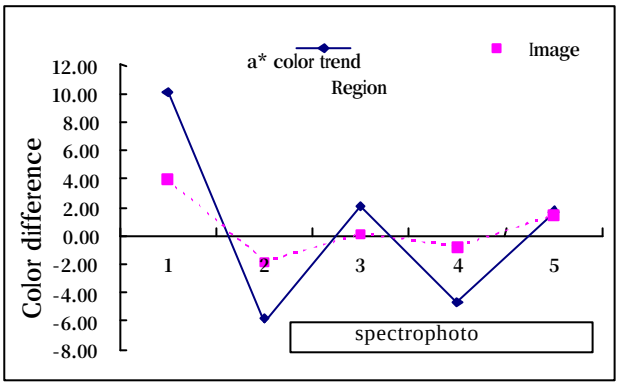

그림 14. 분광 색측계 측정 방법과 슬라이드 필름 측정 방법을 이용한 a* 값의 차이(Δa) 비교. 각 영역간에 차이가 있고 측정 방법에 따라서도 차이가 있다(p<0.01).

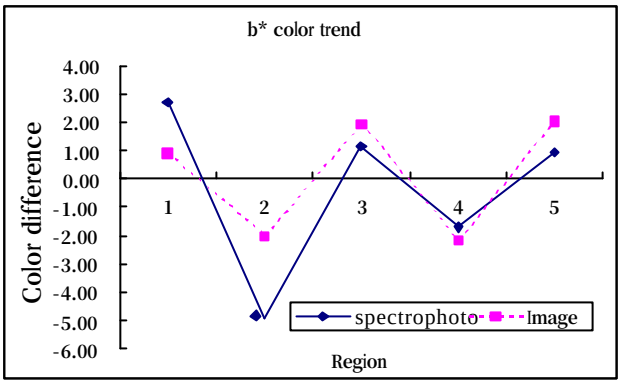

그림 15.분광 색측계 측정 방법과 슬라이드 필름 측정 방법을 이용한 b* 값의 차이(Δb) 비교. 각 영역간에 차이가 있고 측정 방법에 따라서도 차이가 있다(p<0.01).

다. 색의 명명

위의 색 값의 결과를 미국 색표준 명명법[ΔL(명도), ΔC(채도), a*, b*]으로 나타내면 레이저 1 회 조사 시 피부색은 pinkish red [10.98, 15.6, 14.94, 4.67], 2 회 조사 시 피부색은 light gray [16.16, 13.3, 13.0, 2.65], 3회 조사 시 피부색은 uniform gray [13.14, 13.93, 13.17, 4.56], 4회 조사 시 피부색은 pale gray [17.44, 12.5, 2.36, 2.39], 5 회 조사 시 피부색은 chamois yellow [13.86, 14.4, 13.80, 4.41]로 나타났다.

2. 조직학적 소견

가. 광학 현미경 소견

(1) Hematoxyline & eosin 염색군

정상 피부와 비교하여 레이저 조사 후 표피 두께의 감소, 유두 진피층의 편평화, 교원 섬유의 소실로 인한 elastolysis 가 관찰되었고 진피층에 전반적으로 증가된 림프구의 침윤을 볼 수 있었다. 교원 섬유와 탄력 섬유의 방향과 배열이 일정하지 않은 elastolysis 의 변화가 심하였고 조사 횟수가 증가 할수록 세포간질의 혼탁, 종창, 콜라겐 섬유의 수축, 변성이 증가하였다(그림 17~22 A).

(2) Masson trichrome 염색 소견 및 형태계측학적 연구 결과

정상적인 각질층, 표피층, 유두 진피층과 망상 진피층의 콜라겐 섬유가 잘 보이고 레이저의 에너지 증가에 따라 변화되는 콜라겐 및 박피 깊이의 측정이 용이하여 광학현미경상 형태계측에 사용하였다 (그림 17~22B). 고배율 상에서 콜라겐의 변화와 변성이 잘 보이고 특히 3 회 이상 조사에선 콜라겐 내에 생성되는 기포와 콜라겐 조직의 응고 현상이 많이 관찰되었다.

정상 피부 부분의 피부 두께와 박피된 부분의 남아 있는 피부 두께를 0.3mm 간격으로 10 군데 선택하여 영상 분석계로서 측정하고 그 차이를 박피 깊이로 산출한 결과는 표 4 와 같다.

표 4. 각 레이저 조사 횟수에 따른 박피 깊이 (㎛)

조사(회)	전체 박피 깊이	순수한 박피 깊이
1 회	65.2±8.27	42.57±5
2 회	126±7.26	86 ± 5.26
3 회	189±10.1	131±7.84
4 회	232± 6.4	163 ± 4.64
5 회	290±7.33	203± 4.76

이는 표피의 평균 두께가 90.3 ±11.7, 유두 진피의 평균 두께가 143± 5.43, 망상 진피의 평균 두께가 464± 29.7 임을 감안해 본다면 표피 층에서는 60 ㎛ 보다 더 기화되고 표피와 유두 진피의 경계 부위에서는 예상 박피 깊이인 60 ㎛ 보다 덜 기화되며 다시 유두 진피층에서는 기화의 깊이가 깊어지고 유두 진피와 망상 진피 사이에서는 기화의 정도가 줄었다가 망상 진피를 지나면서 다시 깊어지는 양상을 보였다 (그림 16 ,17~22 A, B).

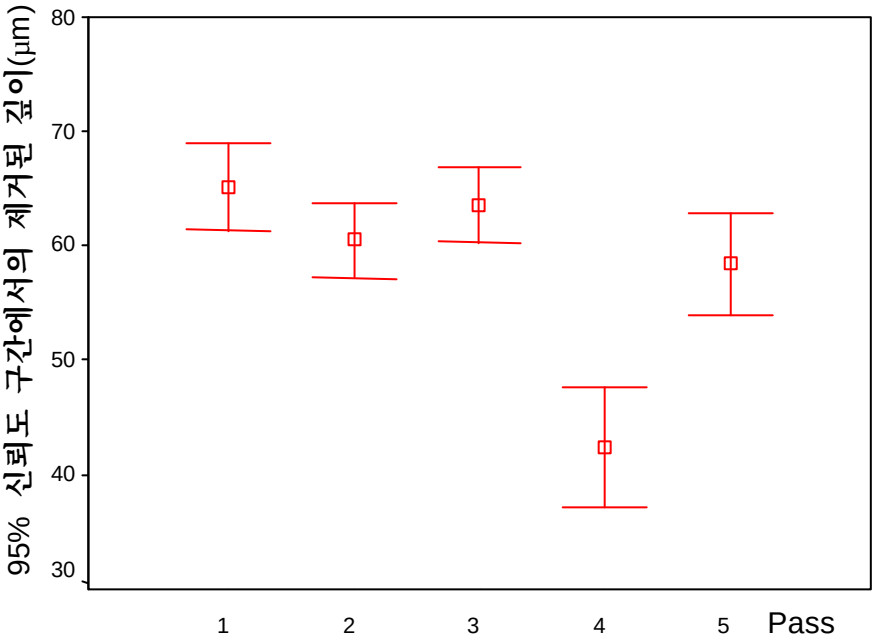

그림 16. 조직이 기화된 두께와 레이저 조사 횟수 간의 상관 관계 (n=20). 피부 조직이 기화되는 두께는 4 pass에 이르러 급격히 감소하였고 5 pass에 이르러 다시 회복되었다 (p<0.01).

(3) PAS 염색 소견

첫번째 레이저 조사에서는 표피와 진피의 경계부위가 박피 되지 않았지만 2 회 조사 이후 에는 경계 부위 소실과 진피 내부 ground substance 의 변화가 일어나기 시작하였다, 레이저 조사 횟수가 진행될수록 변성의 정도는 증가하였다.(그림 23 A, B).

(4) Elastic van gieson 염색 소견

정상 대조 군에서는 유두 진피층에 어둡게 염색되는 진한 탄력섬유(elastic fiber)층이 매우 촘촘하게 보였고 박피가 진행되어도 탄력섬유 자체가 파괴되거나 변성되는 율은 콜라겐 섬유에 비해 상대적으로 적었다.

고배율 소견에서 레이저 1회 조사 시에 탄력 섬유 변화는 나타나지 않았지만 2 회 조사부터 레이저 조사 횟수가 증가될수록 진하게 뭉치는 양상을 보였다. 탄력섬유의 배열은 비교적 일정하였다 (그림 23 C, D).

(5) 면역조직화학적 염색 소견

(가) S-100염색 소견 : Langerhans 세포[38]는 정상 피부에서 한 시야 당 20개 정도의 관찰 되었는데 레이저 1 회 조사 후 28 개 정도로 증가 했다가 이후 레이저의 조사수가 진행될수록 그 수와 비율은 감소하였다.

(나) LCA 염색 : 정상 피부에서는 전반적인 림프구의 침윤이 있었고 광학 현미경 한 시야 당 약 60 개 정도의 림프구가 관찰되었다. 레이저 2 회 조사 후부터는 림프구의 침윤이 증가하다가 3 회 조사 이후부터는 침윤된 많은 림프구들이 응축 되는 것을 볼 수 있었다.

(다) CD20 과 CD45RO 염색 : CD20(L26)[39] 염색에 양성인 B-Cell 이 5%미만 이었고 CD45RO(UCHL)의 염색에 양성인 T-cell 은 60% 이었지만 레이저 조사가 진행 될수록 T-Cell 의 숫자는 감소하였다. 전반적인 T-Cell 의 숫자 감소에도 불구하고 5 회 조사 이후에는 림프구의 대부분은 T-Cell 로 구성되어 있었고 그 숫자는 40 개 정도로 원래 조직에 비해 상대적으로 응축되어 나타났다.

(라) CD68 염색 : LCA 염색과 유사하게 전반적인 염증세포의 침윤이 관찰되었고 대식세포(macrophage)[39] 와 단구(monocyte)의 구별을 위해 Lysozyme 염색을 실시하였다.

(마) Lysozyme 염색 : 특이한 반응이 나타나지 않아 대식세포 보다는 단핵구가 주로 많이 증가하였음을 확인할 수 있었다. 레이저 조사 횟수가 증가함에 따라 단구의 숫자는 증가하였다.

(바) NSE 염색 : 분비 과립(secretary granule)을 가진 땀샘(sweat gland)과 Merckle cell [39]들을 관찰할 수 있었고 레이저 조사 횟수 증가에 따른 변화는 없었다.

(사) HMB-45 염색 : 기저 세포 층에서 멜라닌 색소체가 잘 보였으며 진피 내의 멜라노좀 과립들이 눈에 잘 띄었다. 조사 횟수가 증가함에 따라 멜라닌 색소체는 상대적으로 감소하였다.

나. 전자 현미경 (TEM) 소견 :

평균 콜라겐 섬유의 직경은 0.11㎛ **이었다. 콜라겐 응고 층 바로 밑의 콜라겐 변성 층에서 레이저 조사 횟수 증가에 따른 콜라겐 직경의 변화는 없었으나 콜라겐 섬유 사이의 간격이** 1 pass ; 0.07㎛**에서** 2 pass ; 0.06㎛, 3 pass ; 0.06㎛, 4 pass ; 0.04㎛, 5 pass ; 0.04㎛**로 줄어 들었다** (**그림** 17~22 C).

유두 진피층 내 혈관 확장 현상이 뚜렷하였지만 혈관 내막의 변화나 측면 열손상으로 인한 desmosome **이나** hemidesmosome**의 소실은 발생하지 않았고 혈관의 확장정도와 박피 층의 기화 정도는 비례하였다.**

Langerhans **세포의 크기나 숫자는 변화하지 않았다.**

광 폭발(photoexplosion) **현상에 의한 기포 발생 현상이 가끔씩 조직 내에서 관찰되었다.**

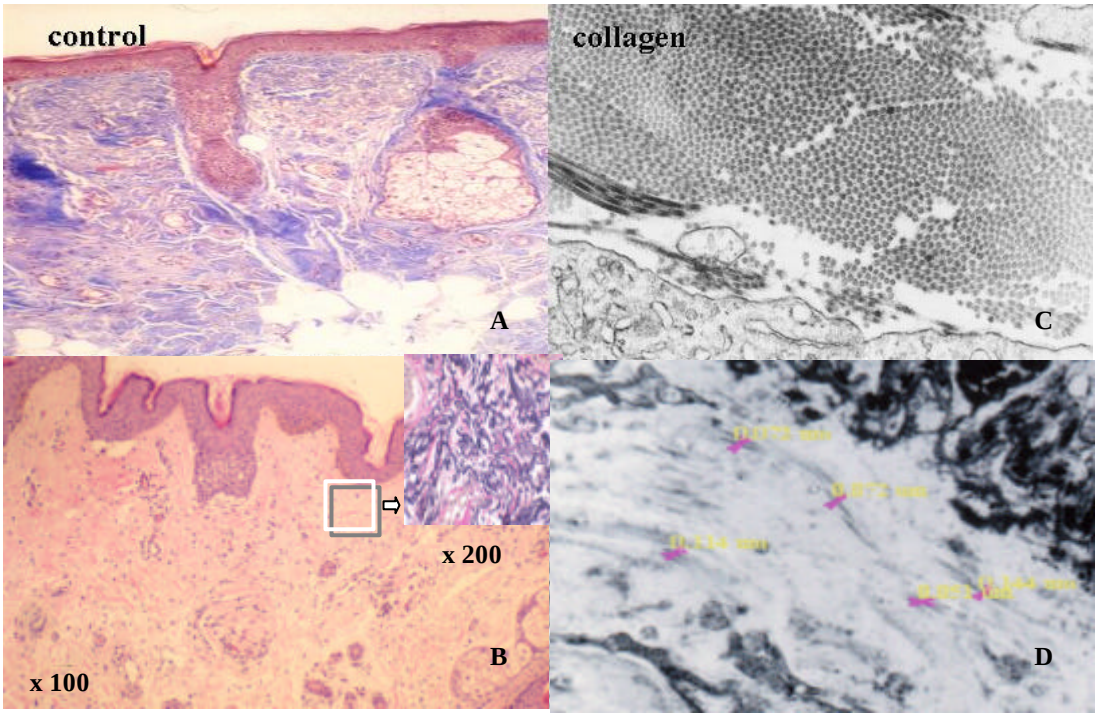

그림 17. 정상 피부의 광학현미경 및 전자현미경 소견. (A) Masson trichrome, x 100. (B) Hematoxylin-eosin, x 100. (B 우측 Inset) Hematoxylin & eosin, x 200, 광 노화의 특징인 elastolysis 와 염증 세포의 침윤을 볼 수 있음. (C) 투과 전자현미경 (TEM), x 10, 400, 콜라겐 섬유의 직경을 관찰하였음. (D) 투과 전자현미경(TEM), x 10, 400, 콜라겐 섬유의 간격을 관찰하였음.

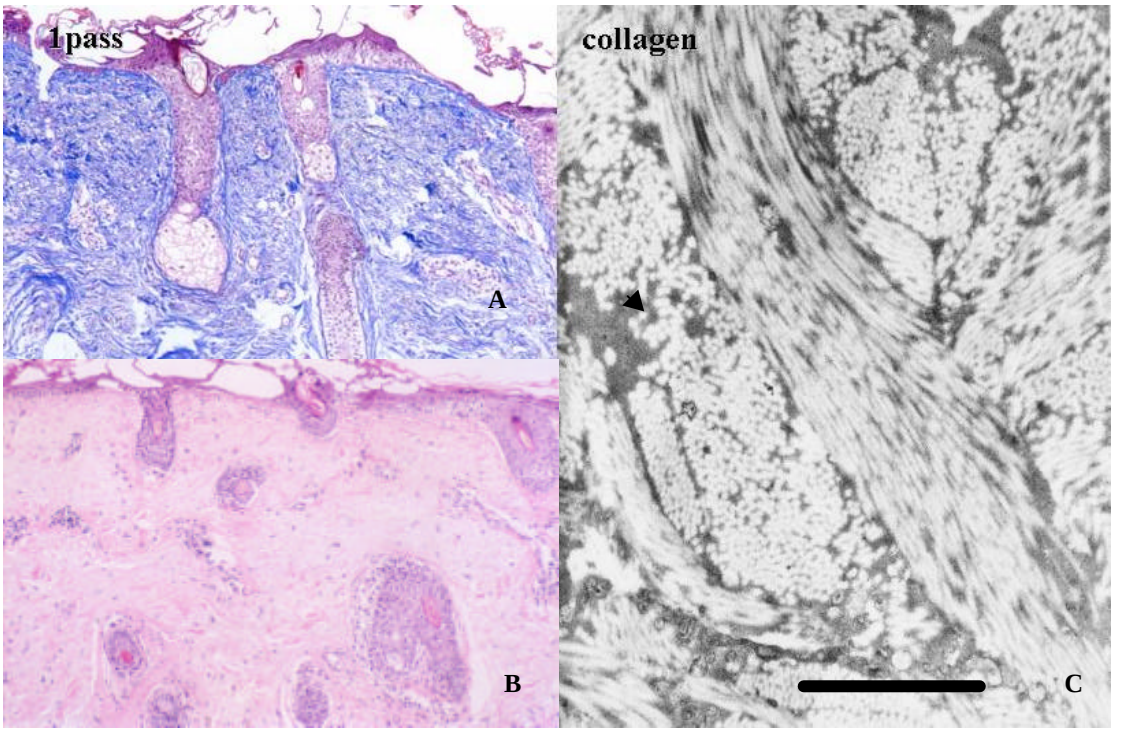

그림 18. 1 pass 후의 광학현미경 및 전자현미경 소견. 박피가 표피 하부까지 이루어 졌음. 콜라겐 섬유의 직경과 간격이 정상 피부와 비교해 큰 변화가 없음 (A. Masson trichrome, x 100, B. Hematoxylin-eosin, x 100, C. TEM, x 10, 400, scale bar –100 ㎛).

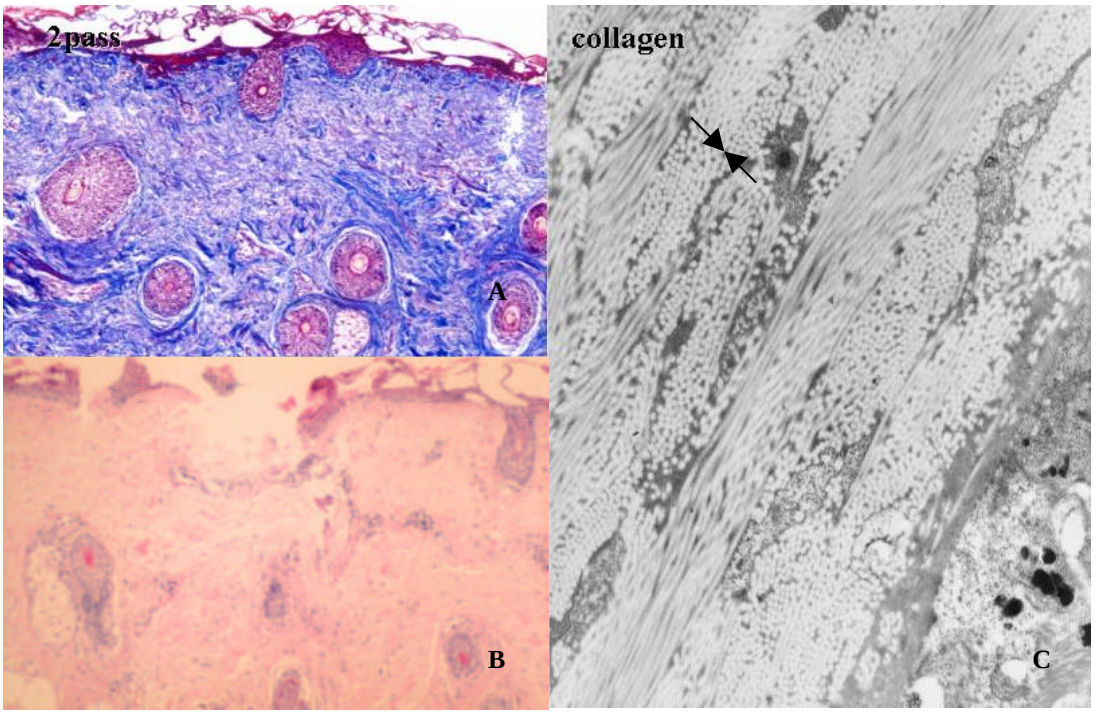

그림 19. 2 pass 후의 광학현미경 및 전자현미경 소견. 상부 유두 진피의 박피가 이루어 졌음. 콜라겐 섬유의 직경과 간격은 레이저 조사가 진행됨에 따라 직경은 증가하고 간격은 감소되고 있음 (A. Masson trichrome, x 100, B. Hematoxylin-eosin, x 100. C. TEM, x 10, 400).

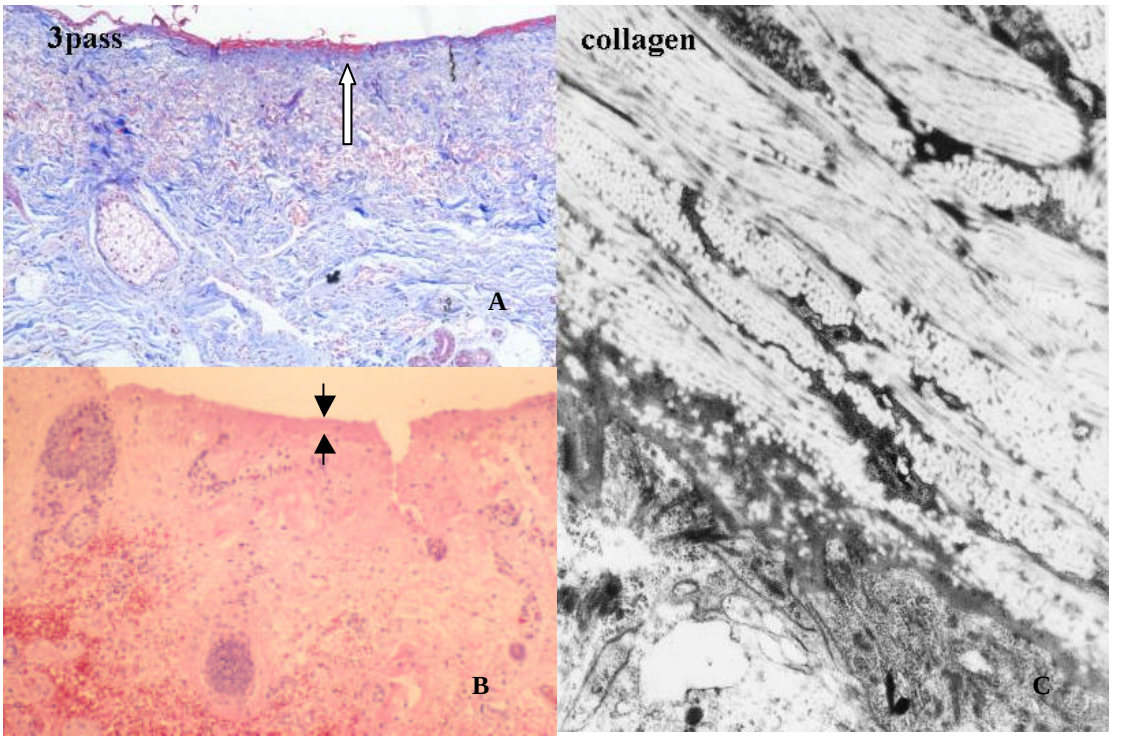

그림 20. 3 pass 후의 광학현미경 및 전자현미경 소견. 조사 횟수에 비례하여 잔존 열 손상이 심해지면서 콜라겐 섬유의 직경은 증가하고 간격은 2 pass 에 비해 줄어 들었음. (A. Masson trichrome, x 100, B. Hematoxylin-eosin, x 100, C. TEM, x 10, 400).

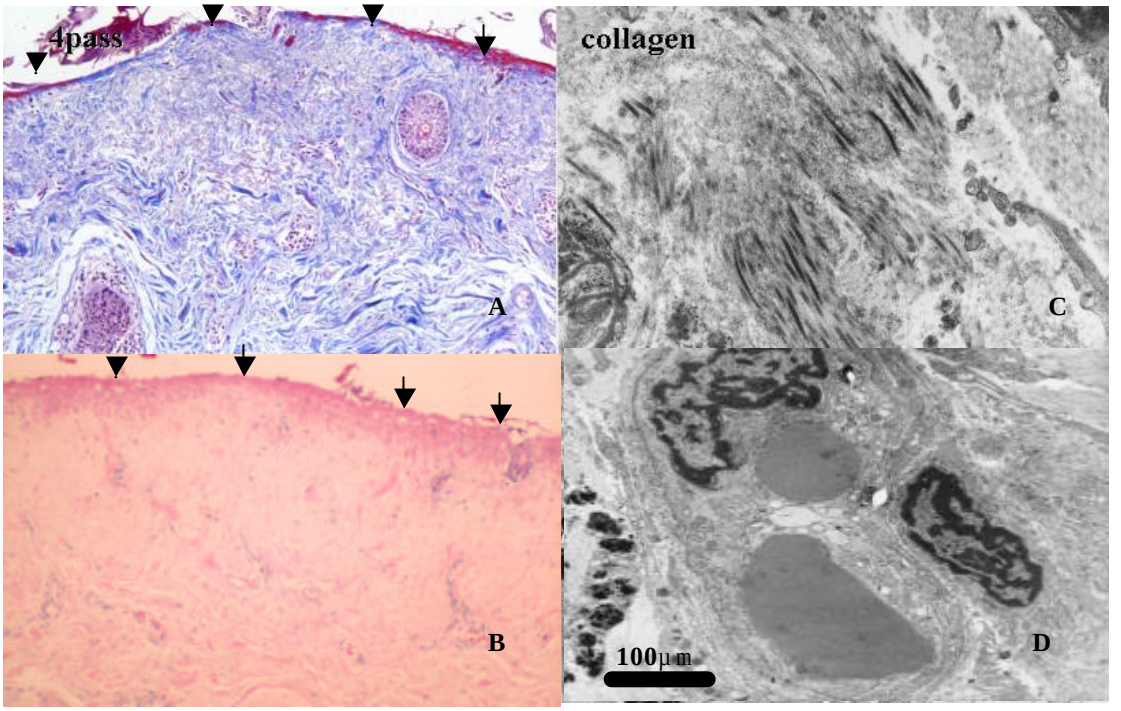

그림 21. 4 pass 후의 광학현미경 및 전자현미경 소견. 4 pass 이상에서는 박피 표면이 편평해지고 3 Pass 에 비해 더 이상의 콜라겐 직경 변화는 보이지 않음. (A. Masson trichrome, x 100, B. Hematoxylin-eosin, x 100, C. TEM, x 10,400). 4 pass 시 박피 직 하부의 혈관 직경 중 장경이 가장 크게 나타남 (D. TEM, x 10, 400).

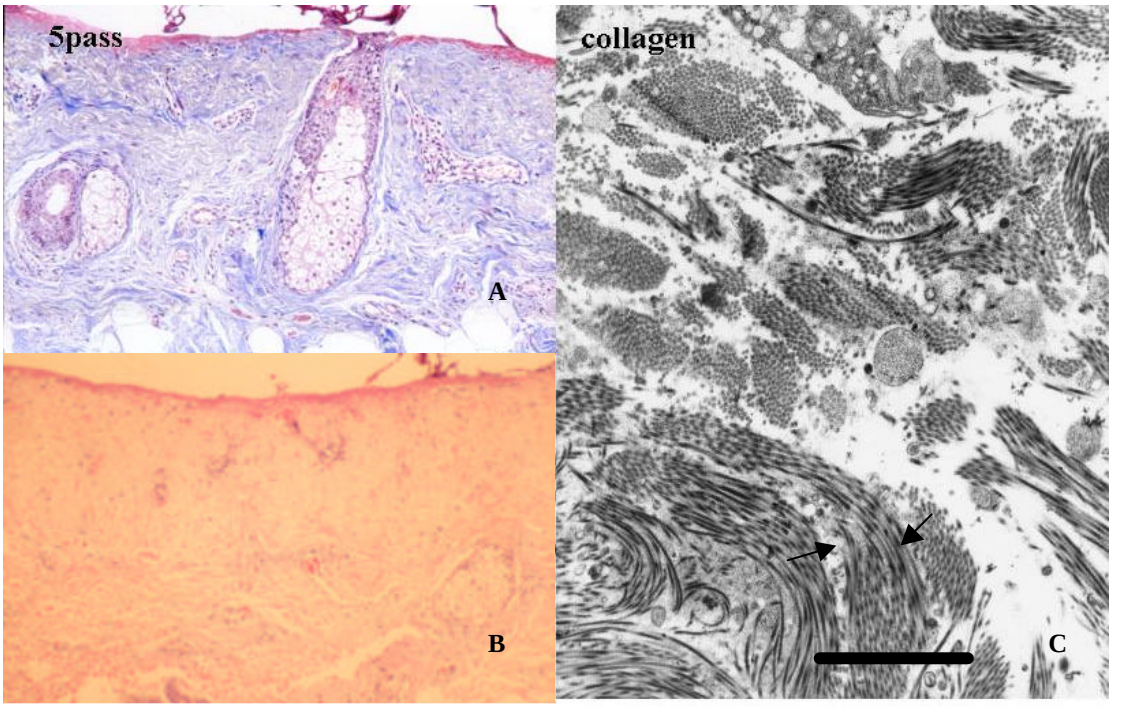

그림 22. 5 pass 후의 광학현미경 및 전자현미경 소견. 콜라겐의 응축을 볼 수 있지만 4 pass 에 비해 박피가 깊이 되었음에도 불구하고 콜라겐 섬유의 간격은 더 이상 줄어 들지 않음 (A. Masson trichrome, x 100, B. Hematoxylin – eosin, x 100, C. TEM, x 10, 400, scale bar –100 ㎛).

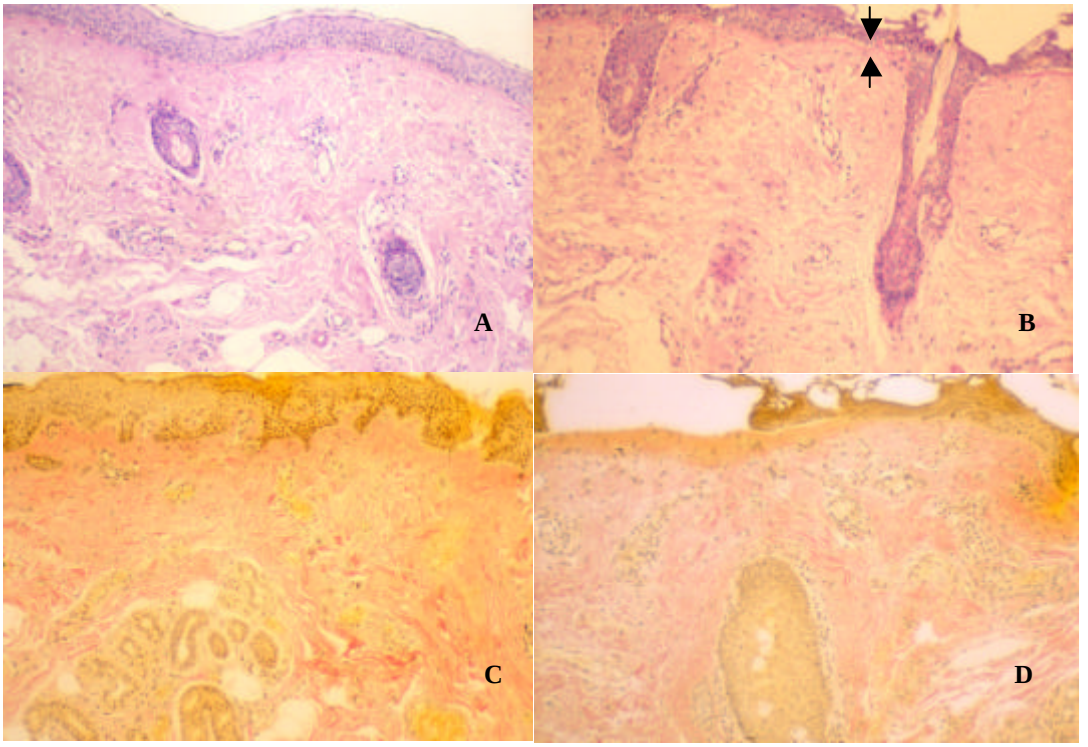

그림 23 정상 피부와 2 pass 후의 PAS 염색과 Elastic van gieson 염색 소견. 레이저 1 pass 후 표피와 유두 진피 사이의 경계 부위가 박리 됨 (A, B. PAS x 100). 2 pass 후에는 탄력 섬유의 간격이 좁아지면서 탄력 섬유층의 수축 변화가 나타남 (C, D. Elastic van gieson x 100).

IV 고 찰

최근 레이저 박피술을 이용하여 안면주름 제거술이나 모반 제거술, 문신 제거술, 피부종양 제거술 등을 시행하는 경우가 증가하고 있다.[28,29,31] 이와 같이 레이저 박피술을 인체에 적용하여 시행할 때 조사하는 에너지의 양에 따른 박피 깊이를 정확히 예측할 수 있는 지표를 설정한다는 것은 합병증을 예방하고 신속한 창상 치유를 예측할 수 있게 하여 준다는 관점에서 매우 중요한 의미를 갖는다.[1-5,25~27,41]

이제 까지는 주로 점착성(gelatinous) 물질을 이용한 피부 실험 모델에서의 레이저 에너지에 의한 조직의 박피 깊이를 연구해 왔고 인체 피부에서 조직 변성과 박피 깊이, 이에 따른 피부색의 변화를 연계해서 체계적으로 연구한 바는 드물다.[4,25,29~31] 1997년 Apfelberg[8] 는 인체 피부를 대상으로 한 연구에서 레이저에 의해 표피만 제거되었을 때에는 빨간 분홍색(reddish pink), 유두 진피 층이 제거되었을 때에는 균일한 회색(uniform gray), 망상 진피 층을 침범하였을 때에는 노란 쎄무색 (chamois yellow)[12]이 나타난다고 하였지만 조직의 병리학적 변화와 연계된 구체적인 연구 보고는 없었고 인체 피부에서 색깔 변화 자체만으로 레이저가 정확히 피부의 어느 층까지 침투 되었는가를 예측한다는 것은 쉽지 않을 뿐만 아니라 인간의 눈에만 의존하는 색값의 측정은 그 오차 범위가 크고 임상적용에 한계가 있다.[6,8~12,23,24,28] 이에 따라 본 연구에서는 안면 피부의 노화(aging face)로 주름살 제거수술을 받고자 하는 Fitzpatrick 피부 타입 VI[3] 환자 10명에서 주름살 제거수술 전 절제 예정인 양측 이개 앞 피부에 Tru-Pulse™ 이산화탄소 레이저 500 mJoule을 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 조사하고 레이저 조사 후의 박피 깊이, 이에 따른 색깔 변화와 조직학적 반응에 대하여 색차 분석학적, 형태학적, 형태계측학적, 조직학적, 면역조직학적, 전자현미경적 방법 등을 통해 연구하였다.

본 연구에서 조사한 색 분석 값은 Apfelberg[8]가 사용하였던 Ultra-Pulse™ CO_2 레이저 보다는 열 손상이 적고 박피 깊이가 얕은 Tru-Pulse™ CO_2 레이저를 사용하였기 때문에 피부 각층 사이의 다양한 색 변화를 측정할 수 있었다.

본 연구를 통해 Apfelberg[8]의 보고에서와 같은 육안으로 실시한 색의 측정 결

과와 분광 색측계 및 computer를 이용한 digital graphic image 측정 결과와의 상관 관계를 살펴본 결과 표피 층이 탈락한 후 육안적으로 보이는 pinkish red 색은 실제로는 yellowish red[19,20]색이었음을 알 수 있었고 이는 육안적으로 관찰할 경우 명도가 낮아 pinkish red 색으로 인식되어지는 것으로 생각된다. 레이저 박피술 후 노출된 유두 진피층은 육안적으로는 무채색에 가까운 gray색으로 보이는데 분광계를 이용할 경우 표피와 유두 진피 경계 부위의 색은 유두 진피 가운데 층의 색에 비해 채도는 감소하고 명도는 증가하는 양상을 보이고 있었다. 즉 Apfelberg가 보고했던 gray색은 유두 진피 층 중간 부분의 색인 것으로 생각된다. 유두 진피 층을 지나가게 되면 yellow색에 가까워 지게 되는데 유두 진피층과 망상 진피층 사이의 색은 쎄무(chamois)색 또는 귤색으로 나타나고 망상 진피의 상부 층은 노란 쎄무(chamois yellow)색으로 나타났다.

피부색의 변화는 피부 각층이 빛을 반사하고 흡수하는 특성이 각기 다르기 때문에 나타나는 현상으로서 본 연구에서는 이를 이용, 레이저 에너지에 대한 조직 반응의 결과로 나타나는 조직 마멸 후 잔여 조직 상태를 색 분석으로서 정량적 측정이 가능함을 밝혔다. 또한 정확한 피부색 관찰을 위해 분광 색측계와 컴퓨터를 이용한 영상 비교 분석 방법을 동시에 시행하여 보았고 두 방법 모두 동일하게 정확한 결과를 보이고 있음을 밝혔다.[32~34,42]

색의 분석은 크게 나누어 눈으로 보는 것과 같은 삼자극치(tristimulus value)에 의한 방법과 빛의 연속 스펙트럼을 이용하는 분석 방법으로 나뉘어 질 수 있다.[9,11,13,15~18,23] 연속 스펙트럼 분석 방법은 눈에 보이는 가시 광선인 300~700nm의 파장을 하나의 분광 곡선으로 나타내 이른바 광원 등의 차이에 의한 조건등색 (metamerism)도 알아 낼 수 있다는 장점이 있다.[9,33] 연속 스펙트럼 분석 방법은 실제로 분광 색측계(spectrophotometer)를 사용하는데 이는 colorimeter에서 얻을 수 있는 데이터를 얻을 수 있을 뿐만 아니라 색의 연속적 분석이 가능하여 색의 반사 계수와 흡수 계수를 정확히 파악, 오차를 줄일 수 있다는 장점이 있다.[9,23,33,40] 삼자극치 분석 방법으로는 컴퓨터를 이용하는 슬라이드 필름 분석을 사용하는 방법이 있는데 본 연구에서는 두 방법 사이의 상관 관계와 박피 깊이와의 관계를 연계하여 분석 하였고[9,14,41] 결과적으로 두 방법 사이에는 커다란 차이가 없음을 밝혔다.

임상에서 이론적인 박피 깊이와 실제 박피 깊이와는 많은 차이가 있을 수 밖에 없음에도 불구하고 이를 상세히 언급한 보고는 없다. 해부학적으로 인체의 피부는 혈관이 분포되어 있지 않은 표피, 모세 혈관이 풍부하고 콜라겐과 탄력 섬유가 밀집된 유두 진피, 그리고 그 밑의 망상 진피의 3층[30,31,41]으로 구성되어 있는데 이는 이제까지 점착성 피부 모델에서의 연구 결과가 실제 임상에서의 결과와는 상이할 수 밖에 없었던 결정적 요인이다. 레이저에 의한 이론적인 박피 깊이는 Beer의 법칙[4] (그림 1)에 따라 에너지량이 증가 함에 따라 비례적으로 증가한다. 하지만 인체 피부에서 그 구성조직이 각기 다른 표피, 유두 진피, 망상 진피의 각층을 레이저가 투과할 때 투과, 산란, 흡수에 의해 그 결과는 각기 다르게 나타난다. 본 연구에서 레이저 박피 후 피부 각층의 경계 부위를 분광 색측계로 측정한 결과 레이저의 흡수와 산란 계수[40]가 서로 다르게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 또한 L*, a*, b* 색 좌표계에서 L*값의 증감은 반드시 흡수 산란 지수와 일치 하지는 않지만 색차의 비교 분석에서 통계적으로 유의성 있는 상관관계가 있음을 Pearson's correlation과 Sperman's rho correlation으로 확인할 수 있었다 ($P<0.001$).[36,37]

분광 색측계 측정 후 빛의 산란 계수와 흡수도를 측정하여 본 결과에서도 레이저가 그 특성과 펄스 폭에 따라 일정한 에너지의 확산이 특정 피부층에 머물 수 있다는 사실을 알 수 있었다. 이는 유두 진피층 내에 풍부히 분포한 모세 혈관이 열의 확산을 억제해 주기 때문으로 생각되며 이 때문에 유두 진피 층을 경계로 예측한 깊이 보다 얕게 박피가 되는 현상을 보이게 되는 것으로 생각된다.

최근의 레이저 박피술은 이산화탄소 레이저를 사용하여 조직의 열손상과 불가역 반응을 최소화하면서 적절한 깊이의 박피를 하는 것이 중요한 목표이다. 이를 위해 짧은 펄스 폭을 가진 레이저를 사용하여, 열확산 시간(thermal relaxation time)을 최소화 하고자 노력하고 있다[2]. 본 연구에서는 피부에 열손상을 최소화 할 수 있는 극초단파 레이저를 인체 피부에 적용하였다. 하지만 아무리 짧은 펄스 폭의 레이저라 하더라도 과도한 양의 레이저 조사는 조직의 궤사를 유발할 수 있음을 알 수 있었다. 이는 다른 연구자들에 의해서도 언급된 바 있다.[26,27] 또한 극초단파 이산화탄소 레이저라 하더라도 매우 짧은 펄스 폭

의 레이저를 조직에 전달하는 과정에서 많은 에너지가 순간적으로 전달되어 광폭발 현상이 일어나고 이로 인해 발생하는 작은 기포들을 발견 할 수 있었는데 이것은 문신이나 오타씨 모반 등을 제거하기 위해 큐 스위치 방식의 레이저를 피부에 조사 하였을 때 나타나는 현상과 유사하였다. 이 기포들은 조직의 대식세포들에 의해서 탐식되어 사라지게 되겠지만 초기에는 이 현상으로 인해 비교적 수분이 적은 진피층에서 조직이 부푸는 것으로 보인다.[17,27] 또한 콜라겐층의 분절화와 수축에 의해 조직의 수축 현상(shrinkage)이 나타나는데 이는 시술 후 2주가 지나면 소멸되는 것으로 알려져 있다.[1,3,6,28,29]

레이저 박피 후 초기 현상으로 나타나는 조직의 수축은 콜라겐의 변성과 관계가 있지만 콜라겐의 불가역적 손상인 응고는 상처 회복에 좋지 않은 영향을 줄 수 있으므로 가급적 이와 같은 부분이 발생하지 않도록 하는 것이 좋을 것으로 생각된다.[5,6,30,31]

본 연구를 통해 박피 깊이와 색차와의 변화에는 밀접한 상관 관계가 있는 것을 확인할 수 있었으며 레이저 조사 후의 피부색 변화는 주로 박피층의 변화에 의한 색의 변화임을 알 수 있었고 사진촬영 후 컴퓨터를 이용한 색 비교 분석에서 색비를 이용한 분석이 보다 분광 색측계 측정 결과와 유사한 것으로 나타나 사진촬영 후 컴퓨터를 이용한 색 비교 분석도 분광 색측계와 함께 임상적으로 유용하게 사용되어질 수 있다고 생각된다.

열 손상의 정도를 색차 값으로 나타내면 같은 동일 층을 박피하는 경우 b* 값의 증감으로 나타나기 때문에 이것을 잘 분석, 응용하면 레이저를 임상적으로 사용하였을 때 열손상 정도를 조직 검사를 하지 않고도 측정할 수 있을 것으로 생각 된다. b* 값의 변화를 추적한 결과 500 mJ로 4 회 이상 조사하면 불가역적 손상이 현저히 증가함을 알 수 있었다. 따라서 색값의 증감은 각 층의 변화와 피부색의 b*값 변화 등에 의한 결과라고도 해석할 수 있다.

a* 값의 변화는 피부내 혈류 내지는 혈관의 변화 와 밀접한 관계가 있는데 레이저 4회 조사 시 그 값이 가장 많이 감소하였고 박피 정도는 현저히 감소하였다. 이와 같은 현상은 전자현미경적 소견에서 정상 혈관 직경이 250㎛인 반면 4회 조사 시 장경 450㎛인 혈관이 가장 많이 관찰된 것과 일치하고 있었다. 이는 일반적으로 체온 조절을 하는 유두 진피 상부층에 비교적 크기가 적은 혈

관들이 밀집되어 있고 하부층에는 혈관의 직경이 상부에 비하여 크면서도 혈류의 양도 많은데 이 혈관들의 완충 작용으로 인해 박피 깊이가 감소되는 것으로 해석된다.[4,24,32,33,34]

레이저 조사 후의 면역조직화학적 염색 소견을 보면 조직의 초기 반응으로 레이저 에너지 조사량이 많아 질수록 T-cell 보다는 단구가 증가하는 양상을 보였다. 또한 HMB-45 염색에서 기저세포층의 멜라닌 색소체가 잘 보였으며 진피내의 멜라노좀 과립들이 다수 분포되어 있었고 레이저 조사 횟수가 증가함에 따라 멜라닌 색소체는 상대적으로 감소하였다. 이는 동양인의 경우 이산화탄소 레이저 박피술 후 서양인보다 색소의 침착이나 비후성 반흔이 잘 생긴다는 주장을 뒷받침[2] 할 수 있는 관찰이었다. 따라서 동양인 피부에 있어서는 펄스 폭이 짧은 레이저라 하더라도 과도한 에너지 조사와 이로 인한 열의 축적은 조직의 손상을 증가 시킬 수 있다는 것을 염두에 두어야 하겠다.[2,4]조직 손상이 증가 할수록 염증 세포의 숫자가 늘어나고 이로 인해 cytokine 분비가 증가됨으로써 창상 치유에 기여 할 수도 있겠지만 변성된 단백 조직은 오히려 창상 치유를 지연시켜 수술 후 과 색소 침착이나 저 색소증 또는 비후성 반흔을 유도 할 수도 있다. 따라서 레이저 박피술 시 가급적 진피의 손상을 최소화하고 신속한 창상 치유를 유도하기 위해 적절한 깊이까지만 박피술을 시행하여야 할 것이다.

전자 현미경 관찰 소견에서 박피 깊이가 깊어질수록 세포가 응고되거나 핵이 사멸되는 죽어가는 apoptosis 현상이 증가하였다. 광 노화 현상의 특징은 염증세포, 특히 단구와 조면 소포체(rough endoplasmic reticulum)가 풍부한 T-cell의 증가 인데, 레이저 조사 횟수가 증가될수록 이들 면역 세포들도 파괴되는 양상을 나타내었다.

면역조직화학적 검사 결과 레이저 조사 횟수에 따른 Langerhans 세포의 증감은 조직의 탈수 현상과 열의 축적에 의한 세포의 변성으로 생각 되어지는데 melanocyte , merkel cell, T-cell, B-cell, monocyte 등의 변화에 대해서는 전체 조직의 변화와 연관지어 비교 분석하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

PAS염색 소견에서 표피와 진피를 연결하는 강한 연결 조직이 레이저 일회 조사에서도 분리되는 양상을 보이고 있어 표피 층만의 박피는 이산화탄소 레이

저 500 mJ 레이저 일회 조사만으로도 충분할 것으로 생각된다.

이상에서와 같이 레이저 박피 후 조직 세포에 다양한 변화가 나타나는 것으로 미루어 보아 레이저 조사 후 에너지는 주로 박피에 쓰여지고 나머지는 산란, 흡수 효과로 인해 면역반응과 창상 치유의 초기 단계인 염증반응을 유도 하는 것으로 생각된다. 이에 관해서는 추가적인 물리학적, 조직 세포학적, 면역조직화학적 연구가 진행 되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

레이저 박피술을 인체에 적용함에 있어 조사하는 레이저 에너지 양에 따른 박피 깊이를 정확히 예측할 수 있는 지표를 설정한다는 것은 레이저 조사 후의 합병증을 예방하고 신속한 창상 치유를 예측할 수 있게 하여 준다는 관점에서 매우 중요한 의미를 갖는다. 본 연구에서는 레이저 조사 후 조직의 손상 정도와 깊이, 피부색 변화를 체계적이면서도 다원적으로 비교 분석하기 위해 안면 피부의 노화로 주름살 제거수술을 받고자 하는 10명의 환자에서 주름살 제거수술 전 절제 예정인 양측 이개 앞 피부에 500 mJ의 레이저 에너지를 각기 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 조사하고 피부의 색깔 변화와 연관된 조직의 변화를 색차 분석학적, 형태학적, 형태계측학적, 조직학적, 면역조직학적, 전자현미경적 방법 등을 통해 구명하여 다음과 같은 결과와 결론을 얻었다.

1. Tru-Pulse™ 이산화탄소 레이저 500 mJ로 정상 중년 여성의 귀 앞 피부를 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 조사했을 때 나타나는 피부의 평균 [L*, a*, b*] 색값은 각기 [60.98, 14.94, 4.67], [66.16, 13.06, 2.65], [63.34, 13.17, 4.56], [67.44, 12.36, 2.39], [63.86, 13.80, 4.41] 이었고 이때의 평균 색값을 관용 색 이름표와 대조하였을 때에 각기 분홍빛 적색(pinkish red), 밝은 회색(light gray), 균일한 회색(uniform gray), 옅은 회색(pale gray), 쎄무색 노랑(chamois yellow)으로 명명할 수 있었다.
2. 500 mJ로 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 조사했을 때 박피 되는 깊이는 각기 65.15±8.27㎛, 125.7±7.26㎛, 189.3±10.1㎛, 231.7±6.4㎛, 290.1±7.33㎛이었다. 이를 귀 앞 정상 피부와 비교했을 때 각기 표피 하부, 유두 진피 상부, 진피 중간층, 망상 진피 상부, 망상 진피 중간 부위에 해당되었다.
3. 레이저 조사 이후 피부 표면의 색깔 변화를 측정함에 있어 슬라이드 필름 촬영을 통한 컴퓨터 영상 분석과 분광 색측계에 의한 색 분석과는 그 결과가 동일한 양상으로 나타났으나 상대적 측정치인 색비 값 측정이 절대적 측정치인 색차 값 측정에 비해 오차 범위가 적었다.
4. 레이저 조사 시 Langerhans 세포는 1회 조사 시 약간 증가하였다가 그 이후 감소하였고 T-림프구와 단구는 초기에 같이 나타났다가 조사 횟수가

늘어남에 따라 T-림프구는 감소하였고 단구는 증가하였다. HMB45 염색상에서 레이저 조사 횟수가 증가함에 따라 현저한 멜라닌 색소체의 감소가 관찰되었다.

5. 콜라겐 섬유의 직경은 1회, 2회, 3회 조사했을 때 정상 피부에 비해 각기 0.1㎛, 0.02㎛, 0.02㎛ 증가 하였으며 그 이후의 변화는 없었다. 이는 레이저 조사 후 콜라겐 섬유 사이의 간격이 줄어듦으로 해서 피부 조직의 수축이 일어나고 있음을 의미하고 있었다.
6. 조직 내에 생긴 기포의 평균 크기는 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 조사했을 때 각기 8㎛^{2}, 11㎛^{2}, 12.6㎛^{2}, 14.5㎛^{2}, 16㎛^{2} 로서 조사 횟수가 늘어남에 따라 기포의 크기는 증가하였다.

이와 같은 연구 결과를 통하여 이산화 탄소 레이저를 이용한 인체 피부 박피 시 에너지 양에 따른 박피 깊이는 피부 각층마다 다르게 나타나나 이에 따른 색 변화는 비교적 일정하게 나타나 피부 색의 변화는 에너지 양에 따른 박피 깊이와 주변 조직의 손상 정도를 간접적으로 예측할 수 있는 유용한 지표가 될 수 있을 것으로 생각되고 이때 색차보다는 색비를 관찰하는 것이 측정값의 오차를 적게 하는 방법임을 확인하였다. 또한 레이저 조사 횟수 증가에 따른 과도한 멜라닌 색소체 감소 현상으로 미루어 보아 동양인에 있어서 과도한 레이저 박피는 창상 치유과정에서 피부 색소 체계에 변화를 가져올 수 있다고 사료된다.

참고 문헌

1. Fitzpatrick RE. Use of the ultrapulse CO_2 Laser Surgery for dermatology including facial resurfacing. American Society for Laser Medicine and Surgery [Abstracts].; Abstract #234 , p.50. San Diego, CA.1995.
2. KimJW,LeeJO. Skin Resurfacing with Laser in Asians. Aesth Plast Surg1997; 21:115-117.
3. Fitzpatrick RE, Ruiz-Esparza J, Goldman MP. The depth of thermal necrosis using the CO_2 Laser : A comparison of the superpulsed mode and the conventional mode. J Dermatol Surg Oncol 1991; 17:340- 44.
4. Fisher JC.The concept, calculation and surgical importance of power density : Significance of superpulsing : Study guide for the basic science and safety examination.The American Board of Laser Surgery Inc.,1997; p.41-57.
5. Dover JS. Laser Skin Resurfacing : Seminars in cutaneous medicine and surgery. 1996;15:189-193.
6. Fitzpatrick RE, Goldman MP. CO_2 Laser Surgery. In Goldman MP, Fitzpatrick RE, eds. Cutaneous Laser Surgery. St. Louis, Mosby, 1994, p.198-258.
7. Harris DM. Eyelid Resurfacing .Lasers in Surgery and Medicine1999; 25:107-122.
8. ApfelbergDB . UltraPulse carbon dioxide laser with CPG scanner for full-face resurfacing for rhytids, photoaging, and acne scars. Plast Reconstr Surg 1997;99:1817-1825.
9. Minolta . Precise Color Communication. Minolta Co. , Japan 1998
10. Kiyoshige Y, Tsuchida H, Watanabe Y. Color monitoring after replantation. Plast Reconstr Surg 1996; 97: 463-468.
11. MacAdamDL. Sources of Color Science. Cambridge, Mass:MIT Press ;1970
12. Reid R. Physical and surgical principle governing carbon dioxide laser surgery in the skin. Dermatol Clin 1991;9:297-316.
13. 박병덕,이승헌. 아토피 피부염과 세라마이드, 한국피부장벽학회지 2000; 2 : 27-35.
14. Gonzalez RG, Woods RE. Digital image processing . New York :Addison Wiley; 1992, p.221-254.

15. Malm M. Telespectrophotometric reflectance measurements for evaluating results after argon laser treatment of portwine-stain compared with natural color system notations. Ann Plastic surg 1988;20:403-409.
16. Mark N, Clemens F. Analysis of skin erythema using true-color images. IEEE Trans Med Imag 1997;12 :711-16.
17. Oshiro T . Spectrum of new wide-spectrum spectrophotometer : Laser treatment for naevi. 1st ed. Toyko : Wiley Press; 1995, p135.
18. Pierad GE. EEMCO guidance for assessment of skin color. Journal of the European Academy of Dermatology and Venerology 1998; 10 :1-11.
19. 한국방송공사. 실용 한국 표준색 표집.서울, 1996: p1-41.
20. 김학성. 디자인을 위한 색채.도서출판 조형사,서울,1999 :p74-78.
21. 박도양. 실용 색채학. 양도출판사, 서울, 1997:p50-3.
22. 최은순. 디기털 칼라와 칼라 메니지먼트 .㈜ 용진 그래픽스,서울, 1999:p.79.
23. Weatherall IL, Coombs BD. Skin color measurement in terms of CIELAB color space values. J Invest Dermatol 99: 468-467 ,1992
24. Verkruysse W. Simulation of color of port wine stain skin and its dependence on skin variable. Lasers in Surgery and Medicine 1999; 25:131-139.
25. Stuzin.JM. Histologic effects of high energy pulsed CO_2 laser on photoaged facial skin. Plast Reconstr Surg 1997; 99: 2036-57.
26. Anderson PH, Bejerring P. Spectral reflectance of human skin in vivo. Photodermatology 1990; 7:5-12.
27. Anderson RR, Parish JA. Selective Photothermolysis : Precise microsurgery by selective absorption of pulsed irradiation. Science 1983.220:524-527.
28. Apfelberg DB. Cosmetic laser surgery. 1st ed. New York, Little Brown, 1996, p52-67.
29. Arndt KA. Cutaneous resurfacing. Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery ,15 Sep, Philadelphia, WB Saunder, 1996, p.134-313.
30. Backer TJ, Stuzin JM. Chemical peeling and dermabrasion. In McCarthy JG, ed. Plastic Surgery. Philadelphia, WB Saunder, 1999.p.748-84.
31. Bosniak SL.Laser facial rejuvenation . 2nd ed. Philadelphia, Lippincott, 1999, p134.
32. Ellis DL ,Weisgerg NK, Chen JS, Stricklin GP, Reinisch L . Free electron laser infrared wave lengthspecificity for cutaneous contraction. Lasers in Surgery and Medicine 1997;25:1-7.

33. Smithies DJ. Modeling the distribution of laser light in port-wine stain with the Monte Carlo Method. Phys Med Biol 1995; 40 :701-733.

34. Vargas G : Use of an agent to reduce scattering in skin. Laser in Surgery and Medicine 1999; 24:133-141.

35. Utely DS. Histologic analysis of the thermal effect on epidermal and dermal structures following treatment with the superpulsed CO_2 laser and the erbium :Yag laser: An in vivo study . Lasers in Surgery and Medicine1999; 24:93-102.

36. 안재억, 유근영, 이중환. 의학, 보건학 통계분석. SPSS 아카데미,서울, 1999: p.20-139.

37. 이화룡. 엑셀 함수 사전. 한빛 미디어, 서울, 2000 :p.77-456

38. 이정옥. 부신 피질 호르몬 국소 도포가 Guinea Pig 표면의 Langerhans세포에 미치는 영향에 관한 연구.이화여자대학교 대학원 의학과,1989:p.6-13.

39. 김세종. 면역학. 고려의학,서울, 1994: p.24-45.

40. Anthony John Owen. 가시-자외선 분광법의 이론과 실제, 서울, 1996:p38-138.

41. Coleman WP. Skin Resurfacing . 1st ed. Baltimore, William & Wilkins; 1998: p.245-247.

= Abstract =

Color Change and Histologic Reaction of Human Skin after CO_2 Laserbrasion

Jin Wang Kim

Brain Korea 21 Project for Medical Sciences
The Graduate school, Yonsei University

(Directed by Professor Kwan Chul Tark)

The relationship between the amount of irradiating laser energy and consequent abrasion depth has a very significant meaning in terms of prevention of complications and prediction of rapid wound healing in clinical setting of laserbrasion surgery. We conducted this study to document abrasion depth, skin color changes and histological reactions after CO_2 laserbrasion in human skin.

Before removal of aging skin in 10 face lift patients with Fitzpatrick skin type VI, a 500mJ Tru-Pulse™ CO_2 laser was irradiated to bilateral preauricular skin surfaces supposed to be resected later. The laser beam was 3mm regular square Mesa mode and irradiated one through to five passes, 5mm apart from superior pole to inferior. After laser irradiation, the skin color changes were recorded by a spectrophotometer as well as color reversal slide film at an uniform distance and light source. The color slide film was scanned using Nikon Coolscan III scanner. The scanned color images were analyzed with a graphic program Adobe Photoshop™ including R (red), G (green), B (blue), H (hue), S (saturation), B (brightness), L*, a*, b* values, and then named the color of the irradiated skin surface after each pass was assessed by referring to the Korean Standard Colors published by Korean Broadcasting System. Then the color values obtained from the spectrophotometer and color slide film were analyzed and compared in terms of absolute color values and relative color differences of the skin areas after each pass. After recording the skin color, bilateral preauricular skins were resected and stained with Hematoxylin & eosin, Masson trichrome, Elastic van gieson stains to evaluate abrasion depth, thermal tissue damage using a light microscope.

To observe specific cell infiltration after laserbrasion, immunohistochemical study was also

conducted using Labeled Streptavidin Biotin Kits. A transmission electron microscope was used to document changes in collagen size and inter-collagen distance after laserbrasion.

The results were as follows:

1. Irradiation of Tru-Pulse CO_2 laser 500mJ to preauricular skin in a middle aged woman revealed a pinkish red color with mean L*, a*, b* values of 60.98, 14.94, 4.67 after 1 pass, a light gray color with of 66.16, 13.06, 2.11 after 2 passes, a uniform gray color with of 3.34, 13.17, 4.56 after 3 passes, a pale gray color with of 67.44, 12.36, 1.87 after 4 passes, and a chamois-yellow color with of 63.86, 13.80, 4.41 after 5 passes respectively.

2. After 1, 2, 3, 4 and 5 passes laser energy of 500mJ, the skin was abrased to 65.15±8.27㎛, 125.7±7.26㎛, 189.3±10.1㎛, 231.7±6.4㎛ and 290.1±7.33㎛ respectively. Each abrasion depth coincided with the level of the lower epidermis, the epidermo-papillary junction to upper layer of the papillary dermis, the mid layer of the papillary dermis, the papillary and reticular dermis junction to the upper layer of the reticular dermis, the mid layer of the reticular dermis respectively.

3. The results of measurement of skin color changes after laserbrasion showed the same distributions by spectrophotometer measurement and computer aided photo film image analysis. However comparison of relative color ratio (E/E') was more precise and statistically significant than a comparison of absolute color difference (ΔE).

4. Langerhan's cells infiltrated after 1 pass laserbrasion, but the population of the cells decreased after 2 passes. Both T-cells and monocytes appeared in lesser laser passing. However, the greater the number of passes, the more T-cells decreased and monocytes increased. HMB45 staining revealed that melanocyte and melanosome numbers decreased as pass number increased.

5. By transmission electron microscopy, the diameter of the collagen fibers increased to 0.1 ㎛ and 0.02㎛ compared to normal collagen fiber after 1 pass and 2 passes respectively. Subsequent passes caused no further change in diameter, but the inter-collagen distance decreased.

6. The mean size of vacuoles developed in residual tissues after laserbrasion was 8㎛^{2}, 11㎛^{2}, 12.6㎛^{2}, 14.5㎛^{2}, and 16㎛^{2} after 1 through to 5 passes respectively.

These results show that laserbrasion depth caused by a fixed amount of laser energy is not uniform in each cutaneous layer, but that the observed skin color change is relatively constant according to the amount of laser energy. Based on these observations, skin color change can be used as a useful and precise guideline in determine abrasion depth during laserbrasion surgery, in terms of trying to prevent complications and predict uncomplicated rapid wound healing.
Excessive diminution of melanin and melanocyte after excessive laserbrasion suggests the possibility of postoperative pathologic pigmentation during the wound healing process, particularly in Orientals.

Key words: *CO_2 laser, laserbrasion, abrasion depth after laserbrasion, skin color changes after laserbrasion, histologic changes after laserbrasion, histologic reaction after laserbrasion, pigmentation after laserbrasion, spectrophotometer, color ratio, color difference*