

저출력 광조사의 분자 생물학적 기전

임원봉¹⁾, 최홍란¹⁾, 김병국²⁾, 김지선¹⁾, 김옥준^{1)*}

전남대학교 치의학전문대학원 구강병리학교실 및 치의학연구소¹⁾, 구강내과 및 치의학연구소²⁾

〈Abstract〉

Molecular Biologic Mechanism of Low Level Light Therapy

Won Bong Lim¹⁾, Hong Ran Choi¹⁾, Byung Kuk Kim²⁾, Ji Sun Kim¹⁾, Ok Joon Kim^{1)*}

Department of Oral Pathology¹⁾, Department of Oral Medicine²⁾, Dental Science Research Institute, Chonnam National University, Korea

Low level light therapy (LLLT) is known to accelerate the process of wound healing, bone and cartilage formation, and to decrease tissue necrosis and inflammation. It also can be applicable to acute and chronic injury or degenerative disease. Despite forty-plus years of accumulating experience of the clinical efficacy of LLLT, their molecular biologic evidence is not fully elucidated. The aim of this review is to explore the role of the ROS system and its molecular biologic mechanism in related with inflammatory response, anti-apoptosis and angiogenesis during LLLT. We suggest that activation of ROS system explains many (if not most) of the observed response of cells to LLLT in vitro, and is likely to play a pivotal role in the response of animals and patients to LLLT for both experimental and clinical indications and diseases.

Key words : Low level light therapy, Reactive oxygen species

1. 서론

저출력 광조사 치료(Low-Level light therapy, LLLT)는 지난 40년간 다양한 임상영역에 시도되었다¹⁾. 레이저의 발명 이후 헝가리 Semmelweis 대학의 Endre Mester는 1967년 최초로 LLLT의 효과를 입증하였다. 그는 레이저 조사(laser irradiation)가 암세포를 죽일 수 있는지를 확인하고자 생쥐를 대상으로 실험하였다. 생쥐의 털을 제거하고 두 그룹으로 나누었고, 한 그룹에만 저출력 루비레이저(694 nm)를

조사하였다. 그 결과, 레이저 조사 군에서 암세포의 사멸은 확인되지 않았지만, 생쥐의 털이 매우 빠르게 자라남을 확인하였다. 이것이 최초의 레이저 자극 효과의 발견이었으며, 이 후 저출력 레이저 또는 광 조사는 창상 치유, 연골 및 골 재생 촉진, 조직괴사 억제, 염증 및 통증 저하 등의 효과의 보고로 여러 영역에서 조직의 급성 및 만성 손상 또는 퇴행성 질환 등에 응용되고 있다.

그러나 약 40여년 이상의 임상 연구 결과에도 불구하고 저출력 광 조사 치료의 세포 생리학적 및 분자적 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 리뷰에서는 세포에서 저출력 광 조사 효과에 대해 살펴보고, 이에 따른 세포 내부의 활성 산소종(Reactive Oxygen Species, ROS)과 관련한 분자적 기전을 탐색하여 저출력 광 조사에 따른 신호전달 기전을 확인하고자 한다.

* Correspondence : Ok Joon Kim, Department of Oral Pathology, College of Dentistry, Chonnam National University, Bug-Gu, Gwangju, 500-757, Korea.
Tel: 062-530-4832, E-mail: js3894@chonnam.ac.kr

* This research was supported by the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology(2010-0007676).

Received: Nov 23, 2011; Revised: Nov 25, 2011; Accepted: Dec 08, 2011

1. 저출력 광 조사에 따른 세포 내 ROS의 조절

세포의 산화-환원(Reduction-Oxidation, REDOX) 상태는

대사과정 중 발생하는 활성산소종(Reactive Oxygen Species, ROS)과 항산화 시스템에 의해 제거되는 ROS의 차이에 따라 섬세하게 유지된다^{2,3}. 미토콘드리아에서 산화적 대사에 의해 부산물로서 생성되는 ROS는 세포의 REDOX상태를 변화시킬 수 있다. 고농도의 ROS는 세포에 악영향을 미치지 만, 저농도에서는 세포의 신호전달에 중요한 메커니즘을 하는 것으로 알려져 있다. 더리의 세포에서 ROS는 세포성장의 조절자(mediator)로서 역할을 한다⁴. R. Burdon은 그의 연구에서 ROS의 변화가 세포의 성장에 관한 기전에 중요한 역할을 한다고 보고하였다⁵. 그는 햄스터와 백서의 섬유모 세포(fibroblast)를 이용한 실험에서 저농도 ROS가 세포의 성장을 촉진한다고 보고하였으며⁵, G. Pal 등은 정상 인간 피부 섬유모세포에 저출력의 헬륨-네온 레이저를 조사하였고, 시간에 따른 이미지를 형광 분석한 결과 레이저가 조사된 세포에서 급격한 세포 성장이 관찰되었다고 보고하였다⁶. 앞서의 연구에서 보고된 세포의 성장은 일시적인 ROS의 증가와 관련성이 있다는 것이 알려졌다⁵. 주로 미토콘드리아의 전자 전달계에 의해 생성되는 ROS는 세포의 성장을 자극하며 ROS의 생성이 세포의 항산화 기전을 유도하는 것을 촉발한다고 보고되었다⁶. 세포 내의 ROS의 수준은 세포 내의 항산화 기전에 의해 조절되고 항상성이 유지되며 산화환원 감지 전사 인자를 포함한 단백질을 통해 조절된다. 세포에서 산화적 상태(oxidative condition)는 특히 만성 염증이나 당뇨병에서 관찰되며 Cytochrome C Oxidase의 산화를 증가시키고, 그 결과 저출력 단파장 빛에 대한 반응성을 증가시킨다. 실제로 산화된 미토콘드리아의 전자 전달은 ATP와 ROS의 발생을 증가시키며 증가된 대사상태에서 ROS는 세포의 기능을 변화시킨다. 세포 성장을 증가시키고 REDOX 항상성을 위한 항산화 대사를 증가한다고 보고되고 있다⁶. 이러한 ROS 신호전달은 REDOX변화에 관련된 전사 인자에 영향을 주어 유전자 발현을 변화할 수 있다고 밝혔다^{7,8}. 사실 저출력 광 조사에 의한 다양한 유전자 발현 변화는 많은 연구에서 살펴지고 있다. Zhang 등은 cDNA microarray 분석을 통해 적색 광에서 변화되는 111개의 유전자 변화를 연구한 바 있다⁹. 변화된 유전자 대부분은 직/간접적으로 세포의 성장을 증가시키고 고사(apoptosis)를 억제하는 역할을 하는 유전자였으며, 몇 가지는 항산화(anti-

oxidation) 및 미토콘드리아의 에너지 대사와 관련된 유전자였다.

이러한 저출력 광 조사에 의한 세포 흡수에 관한 연구를 위해 저출력 적색과 적외선 부근의 빛에 대한 세포에서의 첫 번째 광 수용체(photoreceptor)가 미토콘드리아의 전자 전달계의 마지막 효소인 Cytochrome C Oxidase라고 최근 보고되고 있다. Eell등은 670 nm의 적색광(red light)이 cytochrome C oxidase의 활성을 억제한다고 알려진 약물의 활성을 조절하였으며^{10,11}, Karu와 Kalyakov는 Cytochrom C Oxidase의 흡수 스펙트럼과 580-860 nm의 단일 파장의 빛이 조사된 HeLa세포에서의 생물학적 반응이 유사성을 갖는다고 보고하였다¹². 613.5~623.5 nm 부근 및 667.5~683.7의 적색광과 750.7~772.3 nm 및 812.5~846.0 nm의 적외선 계열을 통한 연구에서 Karu는 Cytochrome C Oxidase내부의 Heme A의 CuA와 CuB에 빛이 흡수되는 것을 확인하였고, 이는 적색 및 근적외선 파장이 아마도 구리 이온기의 산화를 통해 Cytochrome C Oxidase의 활성화를 유도했다고 설명하였다^{12,13}.

이러한 연구 결과를 종합해 보면 LLLT의 기본적 기전은 광 수용체로서 Cytochrome C oxidase가 작용하고, 빛에 의해 이 효소가 활성화 되면 전자 전달계가 가속화 되어 ATP의 합성을 촉진한다고 할 수 있다¹⁴⁻¹⁶. 동시에 광 자극은 ROS생성과 연관되어 있어, 대사(metabolism)가 증가될수록 일시적인 ROS의 증가로, 생성된 에너지와 신호전달 체계가 항산화 관련 대사기전의 활성을 견인한다고 여겨진다. 비록 이러한 신호전달이 완전히 규명되진 않았으나, 일부 연구에서 저출력의 광 조사 후 세포내부의 pH 및 칼슘농도의 변화가 관찰되며, 시간이 지남에 따라 ROS의 저하가 이루어졌다고 보고하였다¹⁵. 생화학적, 세포생물학적 변화에 따라 인간 상피세포의 성장과 당뇨병성 상처치유의 가속화가 관찰되며 이러한 영향은 세포의 종류나 성장상태 그리고 산화 환원 상태와 관련이 있다¹⁵.

ROS에 의한 산화적 상태 및 세포 자극은 항상 존재할 수 있기 때문에 세포는 항상 이러한 자극에 대응하여 항산화 레벨을 조절하기 위해 관련 유전자 발현 및 단백질 변화로 반응한다¹⁷. 산화상태에 대한 항상성은 항상 민감하게 조절되며 산화 환원상태는 매우 좁은 범위에서 극단적으로 조

절된다¹⁷⁾. 이러한 ROS는 Superoxide anion(O₂⁻), hydroxylradical (·HO), Hydrogen Peroxide(H₂O₂)등이 있으며 세포내부에서 지질과산화, 아미노산 결가지의 산화, 단백질-단백질 교차 결합, 폴리펩티드 구조 등의 산화를 통해 단백질 변성, DNA변성 등을 야기한다¹⁾. 고농도의 ROS는 주로 만성 및 급성 염증, 약물 및 방사선 노출 등에서 야기되어 세포에 손상을 주지만, 저농도의 ROS는 주로 미토콘드리아의 전자 전달계, Peroxisome이나 Cytosol에서 발생하며, 세포의 비효소적 또는 효소적 항산화 과정에 의해 제거된다¹⁾. 세포내부의 ROS의 증가는 보통 산화적 스트레스 상태로 설명된다. ROS를 감지하여 항산화 기전을 촉발시키는 물질은 세포 내부에 다양하게 존재하며, Fig. 1에 도식화하였다¹⁾. 이들은 ROS를 감지(sensing)하여 중간 신호를 전달하여 산화적 스트레스에 대응하는 여러 전사인자들을 매개한다. 특정 신호전달 분자들의 변화는 다양한 유전자의 발현을 통해 이온의 변화 신호를 조절한다. 그럼으로써 세포는 성장 및 사멸을 조절할 수 있게 된다. 이 중 NF-κB는 120여 가지 이상의 유전자의 발현에 관여하는 전사인자 중의 하나로 BCL-2 관련 anti-apoptotic 단백질, 다양한 성장 인자 및

proto-oncogene 등의 성장 관여 단백질, 부착단백질, 면역 유전자, 급성기 단백질, 염증성 유전자, 여러 cytokine 및 chemokine, 그리고 Superoxide Dismutase 및 Ferritin heavy chain 등의 항산화 유전자 발현에 관여한다. 저출력의 광조사는 처음에는 세포에서 약간의 ROS 증가가 이루어 졌으나 시간이 지남에 따라 ROS 제거에 관한 기전이 촉발되면서 세포내부의 ROS가 다량 제거되는 것이 확인 되었고 또한 LLLT에 따른 NF-κB 활성화 및 다양한 항산화 유전자의 발현이 검출된 바 있으며 LLLT를 통한 ROS 제거 효과에 따라 세포에서의 다양한 반응을 관찰 할 수 있었다^{1,17)}.

2. 저출력 광조사에 따른 염증성 반응의 조절

현재 다양한 항염증 약물로서 Cyclooxygenase(COX) 저해제가 이용되고 있으며 이는 아라키돈산(Arachidonic acid)로부터 프로스타글랜딘 E₂(Prostaglandin E₂, PGE₂)으로의 변환을 억제하는 약물들이다¹⁸⁾. 특히 COX-1은 지속적으로 작용하며 혈소판 응집이나 위장에서 방어 체계 및 신장의 기능 유지 등에 생리적 기능을 갖고 있는 반면, COX-2는

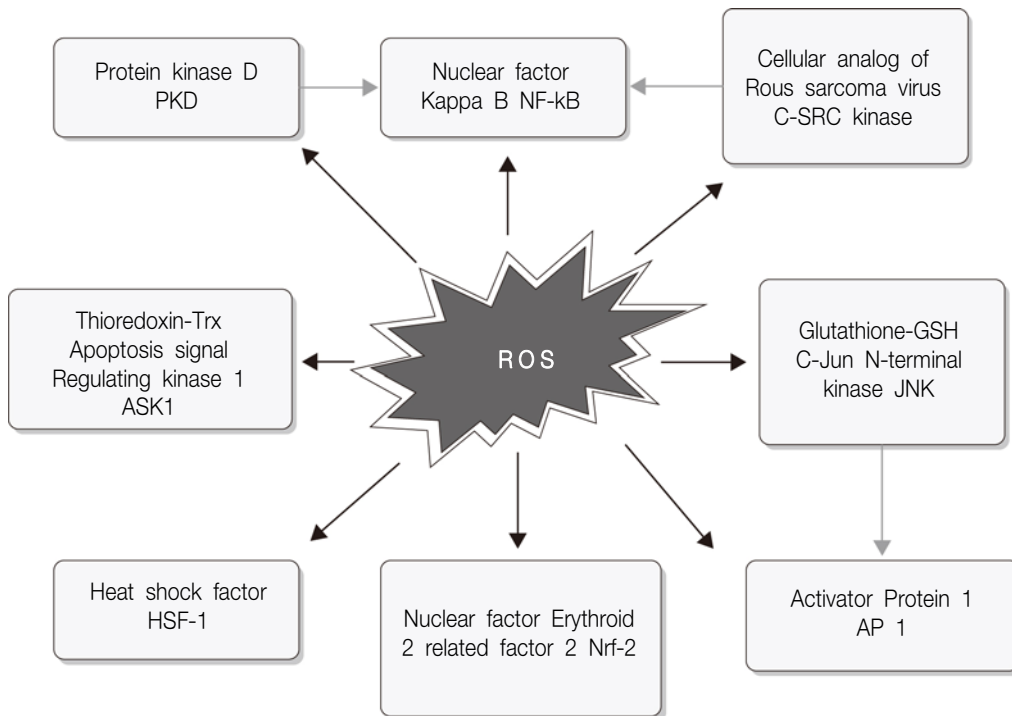


Fig. 1. ROS에 의해 매개되는 세포 반응 및 신호전달에 관한 모식도

라 IL-6의 혈관투과성 및 백혈구 모집이 증가된다. 따라서 IL-6와 IL-8이 저출력 광 조사에 의해 저하되는 것은 염증성 반응에서 자가 면역 반응의 저하에 따른 결과로 여겨진다. 이러한 염증성 cytokine의 발생에 따른 세포 반응을 확인하기 위해 Mitogen-activated protein kinase(MAPK)의 인산화를 분석한 결과 635 nm의 광조사는 P38의 인산화를 저하시켰으나 JNK의 인산화를 증가시켰다. JNK와 P38은 염증성 Cytokine인 Tumor Necrosis Factor - α (TNF- α), IL-1 β , 그리고 산화적 스트레스 등에 반응하는 것으로 알려져 있다. 특히, P38은 TNF- α 또는 여러 Chemokine에 의한 자가 면역과 관련이 있어, 635 nm의 광조사에 의한 염증 반응의 억제와 관련되어 또 다른 염증 매개자인 COX-2나 PGE2 등의 활성을 억제시켰다고 유추할 수 있다^{25,26}. JNK는 여러 성장 인자(FGF, EGF, PDGF)에 의해 활성화되며, 많은 보고에서 저출력 광조사에 의한 다양한 성장 인자의 증가와 관련이 있는 것으로 여겨진다²⁷. 따라서 저출력 광조사는 MAPK의 활성화와 염증성 Cytokine의 발생을 억제시키고 결과적으로 세포 내부의 ROS 감소를 통하여 염증성 매개자인 PGE2의 발생을 억제시키는 것으로 여겨진다.

3. 저출력 광조사에 따른 세포 자멸사의 억제

산화적 스트레스에 의한 세포내 고농도 ROS는 세포에 다양한 손상을 야기하며 세포 사멸을 유도한다. 이러한 ROS종은 세포내부에서 연속적인 반응을 통해 O₂로부터 H₂O₂, OH⁻ 그리고 ONOO⁻등으로 변환되며, 특히 ONOO⁻는 세포에서 많은 생리학적 작용을 보이는 NO와 미토콘드리아에서 첫 번째 ROS종으로 생성되는 O₂가 결합하여 생성되는데, 이들은 강력한 반응성을 보이며 세포의 자멸사를 유도하는 것으로 알려져 있다^{28,29}. 과도한 NO의 발생은 신경세포에서 신경독소(neurotoxin)로 작용하며 알츠하이머병(Alzheimer)이나 파킨슨(Parkinson) 질환 등의 퇴행성 질환에서 신경세포의 사멸을 유도하는데, 종양 억제 인자인 p53 및 Caspase 활성화를 촉진하고 미토콘드리아 막 투과성의 변화를 야기시켜 세포 자멸사 과정을 개시한다. 또한 NO는 자체적으로 미토콘드리아에서 산소와 경쟁적으로 작용하여 cytochrome oxidase의 결합부위에 결합하여 ATP의 합성을

방해한다^{30,32}. 이러한 NO의 발생에 따른 세포에서 미토콘드리아의 기능 저하 및 투과성의 변화는 세포 자멸사의 길항단백질인 Bax, Bak, Bid의 발현과 Cytochrome C의 세포질로의 유출을 유도하고 Caspase의 활성화를 통해 세포 자멸사를 유도한다고 알려져 있다³³.

최근 연구에서 635 nm 저출력의 광 조사는 Nitric Oxide의 공여체인 SodiumNitroprusside(SNP)가 처리된 SH-SY5Y 세포주에서 세포내부의 O₂를 제거하여 ONOO⁻의 생성을 억제한다. 이는 전체 ROS의 양을 저하시켜 Nitrotyrosine의 발현을 억제하며 BAX의 발현을 억제한다. 이에 따라 세포질 내로의 Cytochrome C의 유입을 저해함으로써 미토콘드리아 의존적 세포 사멸기전을 저해하였다(Fig. 3)³³. Cytochrome c의 세포질로의 유입은 Apaf-1와의 결합을 통해 Procaspase-9을 활성화시켜 caspase 시스템을 작동시킨다. 이러한 미토콘드리아 의존적 세포 사멸 기전은 UV-C에 의해 유도된 세포사(cell death)에서도 마찬가지로 세포 내 caspase의 활성화를 통해 이루어지는 것이 관찰되는데, 저출력의 광조사는 Caspase-9과 -3의 활성화를 억제하여 세포 사멸 기전을 저해하는 것으로 보고된 바 있다³⁴. 따라서 저출력의 광조사는 세포의 산화적 스트레스 상태를 개선시키고 세포의 외부 혹은 내부로부터 시작되는 세포의 사멸 기전을 억제하여 퇴행성 질환에 유용하게 적용될 수 있으리라 여겨진다.

4. 저출력 광조사에 따른 혈관 신생

조직의 성장에 있어서 충분한 혈액공급이 유지되어야 하므로 혈관 신생은 상처 치유 중 필수적인 과정이라 할 수 있다^{35,36}. 혈관 신생은 조직의 창상치유 과정 중 초기에 이루어지며, 저산소증(hypoxia)에 의해 유도되는 유전자 발현 및 혈관내피성장인자(VEGF) 등에 의해 정밀하게 조절되며 VEGF는 혈관 내피 세포에서 발현되는 Tyrosine kinase 수용체인 VEGFR1과 VEGFR2와의 결합을 통해 혈관 신생에 관한 신호를 전달하게 된다^{37,38}. Hypoxic/ischemic 상태에서는 다량의 ROS가 생성되며 이는 혈관 신생에 중요한 역할을 한다³⁷. 증가된 ROS는 Hypoxia-Inducible Factor 1(HIF-1)의 발현을 증가시키고 혈관 신생에서 VEGF에 의한 전사를 조절한다^{39,42}. 그러나 과도하게 생성된 ROS는 직접

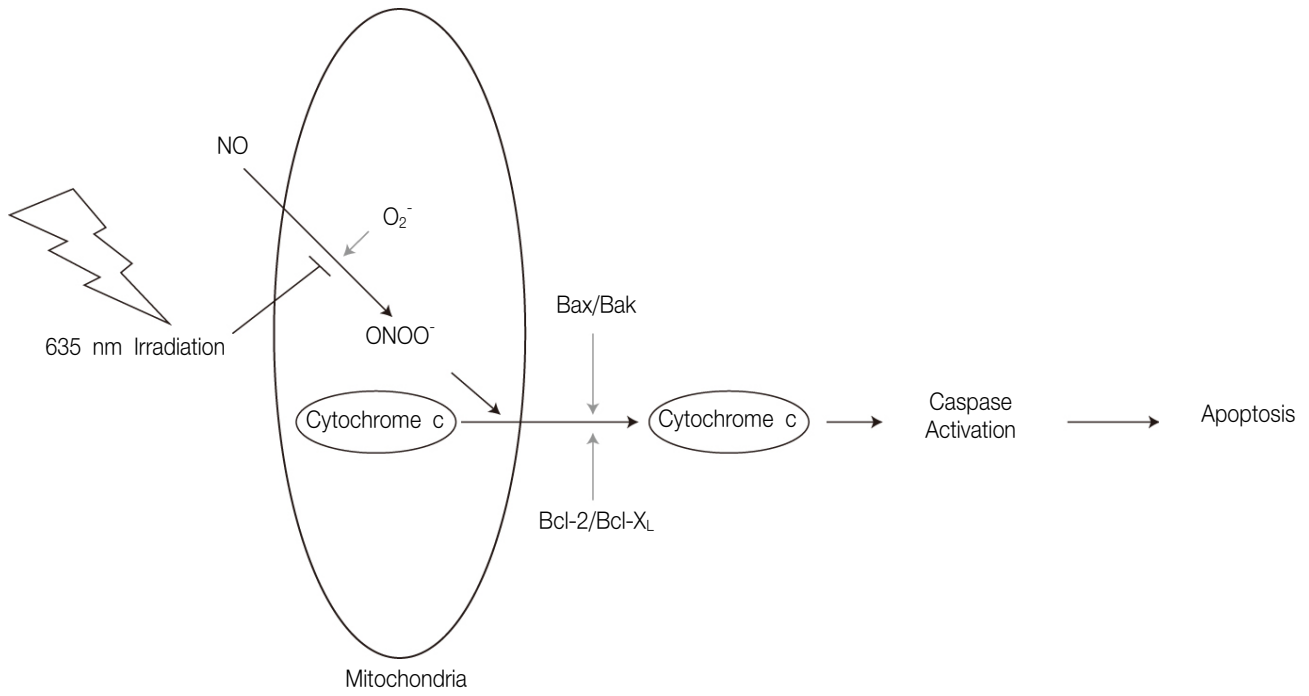


Fig. 3. NO에 의해 유도되는 미토콘드리아 의존적 세포사멸 및 635 nm의 광 조사에 의한 억제 기전³³⁾

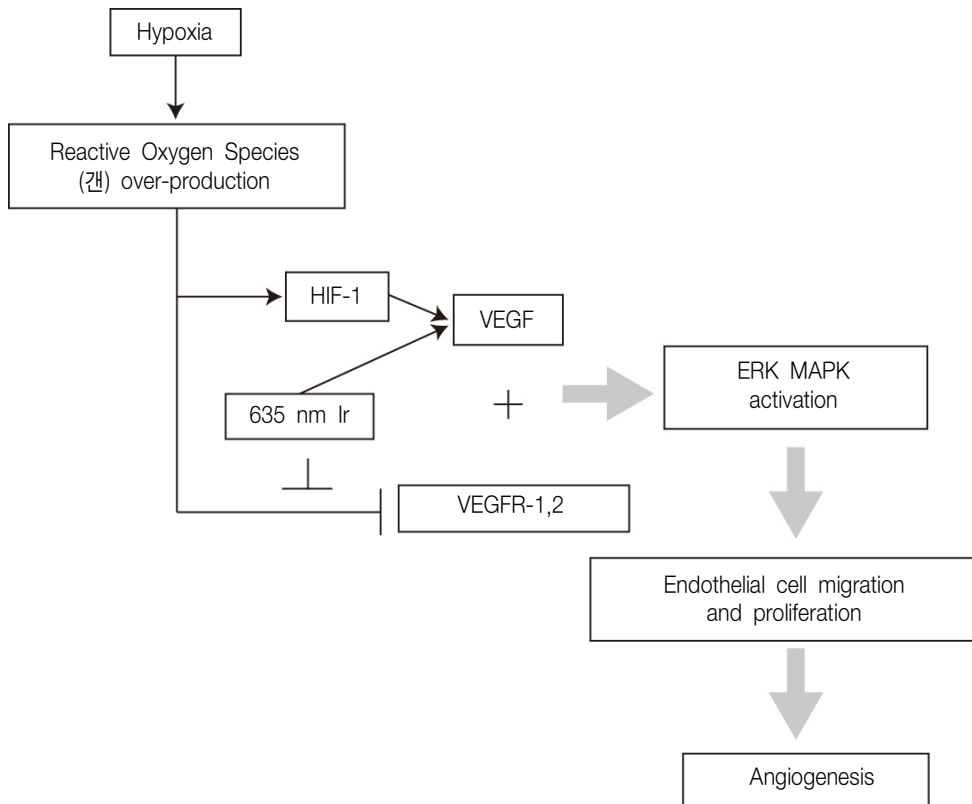


Fig. 4. ROS에 의한 VEGFR의 억제 및 635 nm의 혈관 신생 자극 기전⁴³⁾.

적으로 DNA와 단백질 막지질 등을 공격하여 세포사멸을 유도하게 된다. 최근 연구에 따르면 CoCl₂가 처리된 HUVEC 세포주에서 635 nm의 광 조사는 HIF-1과 VEGF의 발현도 촉진하였지만 과도하게 생성된 ROS의 저하를 유도하여 고농도 ROS에 의한 VEGFR-1과 -2의 발현의 저하를 억제하였다⁴³⁾. 이러한 기작을 통해 VEGF가 VEGFR-1과 -2와 보다 쉽게 결합하며 MAPK 중 ERK의 활성화를 통해 혈관 내피세포의 성장을 증가하고 Tube formation 및 혈관 신생을 촉진한다고 보고되었다⁴³⁾. 이는 저출력 광 조사가 혈관 신생 인자의 유리를 촉진하는 동시에 과도한 ROS에 의한 내피세포의 VEGFR 활성화 억제를 경감시켜 결과적으로 창상 치유 시 신생혈관의 생성을 유도하는 것으로 여겨진다.

III. 결론

현재 저출력의 레이저 치료는 임상영역에서 창상 치유 및 통증 경감 그리고 다양한 염증에 직/간접적으로 적용되고 있다. 최근에는 치료부위의 우월한 접근성을 바탕으로 레이저 또는 엘이디를 이용한 많은 임상적 시도가 이루어지고 있으나 정작 기본적인 세포수준에서의 기전에 관한 연구는 부족한 실정이다. 특히 최근 레이저의 사용이 증가함에도 불구하고 사용하고자 하는 레이저의 파장 및 세기 그리고 처치 시간 등의 레이저 조사 조건에 관한 설정 또한 부족하다.

따라서 많은 임상들이 임상영역에서 최적화된 사용을 용이하기 위해서는 저출력 광조사의 생물학적 영향에 관한 연구가 충분히 이루어져야 하며, 분자적 기전과 유전자 발현에 관한 근본적 고찰이 선행되어야 한다. 특히 최근의 연구에서 저출력 광조사에 의한 미토콘드리아의 신호전달, 세포질의 다양한 kinase 및 연속되는 하위의 기전들의 억제는 REDOX potential에 의존한 $\Delta\psi_m$, ROS, Ca²⁺, NO, pHi 등의 항상성에 의해 조절되며, 이에 따른 반응으로서 염증, 산화적 스트레스, 세포 사멸 억제 기전이 발현되는 것으로 여겨진다. 이러한 저출력 광조사에 대한 기초 연구는 임상 영역에서의 적용에 있어서 올바른 안내를 할 수 있으리라

여겨진다.

IV. References

1. Chen AC-H, Huang Y-Y, Arany PR, Hamblin MR. Role of reactive oxygen species in low level light therapy. Proc of SPIE 2009;716502-716511.
2. Tafur J, Mills PJ. Low-Intensity Light Therapy: Exploring the Role of Redox Mechanisms. Photomedicine and Laser Surgery 2008;26:323-328.
3. Menon SG, Goswami PC. A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new. Oncogene 2007;26:1101-1109.
4. Conde de la Rosa L, Schoemaker MH, Vrenken TE, Buist-Homan M, Havinga R, Jansen PL, Moshage H. Superoxide anions and hydrogen peroxide induce hepatocyte death by different mechanisms: involvement of JNK and ERK MAP kinases. J Hepatol 2006;44: 918-929.
5. Burdon RH. Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation. Free Radic Biol Med 1995; 18:775-794.
6. Pal G, Dutta A, Mitra K, Grace MS, Romanczyk TB, Wu X, Chakrabarti K, Anders J, Gorman E, Waynant RW, Tata DB. Effect of low intensity laser interaction with human skin fibroblast cells using fiber-optic nano-probes. J Photochem Photobiol B 2007;86:252-261.
7. Xiao YQ, Freire-de-Lima CG, Janssen WJ, Morimoto K, Lyu D, Bratton DL, Henson PM. Oxidants selectively reverse TGF-beta suppression of proinflammatory mediator production. J Immunol 2006;176:1209-1217.
8. Zhang Z, Oliver P, Lancaster JR, Jr., Schwarzenberger PO, Joshi MS, Cork J, Kolls JK. Reactive oxygen species mediate tumor necrosis factor alpha-converting, enzyme-dependent ectodomain shedding induced by phorbol myristate acetate. FASEB J 2001;15:303-305.
9. Zhang Y, Song S, Fong CC, Tsang CH, Yang Z, Yang M. cDNA microarray analysis of gene expression profiles in human fibroblast cells irradiated with red light. J Invest

- Dermatol 2003;120:849-857.
10. Eells JT, Henry MM, Summerfelt P, Wong-Riley MT, Buchmann EV, Kane M, Whelan NT, Whelan HT. Therapeutic photobiomodulation for methanol-induced retinal toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:3439-3444.
 11. Eells JT, Wong-Riley MT, VerHoeve J, Henry M, Buchman EV, Kane MP, Gould LJ, Das R, Jett M, Hodgson BD, Margolis D, Whelan HT. Mitochondrial signal transduction in accelerated wound and retinal healing by near-infrared light therapy. *Mitochondrion* 2004;4:559-567.
 12. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med* 1985;5:31-39.
 13. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B* 1999;49:1-17.
 14. Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G. Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *J Photochem Photobiol B* 1995;27:219-223.
 15. Pastore D, Di Martino C, Bosco G, Passarella S. Stimulation of ATP synthesis via oxidative phosphorylation in wheat mitochondria irradiated with helium-neon laser. *Biochem Mol Biol Int* 1996;39:149-157.
 16. Passarella S. He-Ne laser irradiation of isolated mitochondria. *J Photochem Photobiol B* 1989;3:642-643.
 17. Avni D, Levkovitz S, Maltz L, Oron U. Protection of skeletal muscles from ischemic injury: low-level laser therapy increases antioxidant activity. *Photomed Laser Surg* 2005;23:273-277.
 18. Brune K. Safety of anti-inflammatory treatment--new ways of thinking. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43 Suppl 1:i16-20.
 19. Szewczuk LM, Forti L, Stivala LA, Penning TM. Resveratrol is a peroxidase-mediated inactivator of COX-1 but not COX-2: a mechanistic approach to the design of COX-1 selective agents. *J Biol Chem* 2004;279:22727-22737.
 20. Arias-Negrete S, Keller K, Chadee K. Proinflammatory cytokines regulate cyclooxygenase-2 mRNA expression in human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;208:582-589.
 21. Sakurai Y, Yamaguchi M, Abiko Y. Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci* 2000;108:29-34.
 22. Lim W, Lee S, Kim I, Chung M, Kim M, Lim H, Park J, Kim O, Choi H. The anti-inflammatory mechanism of 635 nm light-emitting-diode irradiation compared with existing COX inhibitors. *Lasers in Surgery and Medicine* 2007;39:614-621.
 23. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand* 2001;59:167-173.
 24. Tschopp J, Martinon F, Burns K. NALPs: a novel protein family involved in inflammation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4:95-104.
 25. Gutierrez-Venegas G, Jimenez-Estrada M, Maldonado S. The effect of flavonoids on transduction mechanisms in lipopolysaccharide-treated human gingival fibroblasts. *Int Immunopharmacol* 2007;7:1199-1210.
 26. Ji RR, Gereau RWt, Malcangio M, Strichartz GR. MAP kinase and pain. *Brain Res Rev* 2009;60:135-148.
 27. Whelan HT, Smits RL, Jr., Buchman EV, Whelan NT, Turner SG, Margolis DA, Cevenini V, Stinson H, Ignatius R, Martin T, Cwiklinski J, Philippi AF, Graf WR, Hodgson B, Gould L, et al. Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing. *J Clin Laser Med Surg* 2001;19:305-314.
 28. Virag L, Szabo E, Gergely P, Szabo C. Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicol Lett* 2003;140-141:113-124.
 29. Soneja A, Drews M, Malinski T. Role of nitric oxide, nitrooxidative and oxidative stress in wound healing. *Pharmacol Rep* 2005;57:108-119.
 30. Brune B, von Knethen A, Sandau KB. Nitric oxide and its role in apoptosis. *Eur J Pharmacol* 1998;351:261-272.
 31. Nguyen T, Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannenbaum SR. DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:1153-1157.

Sci U S A 1992;89:3030-3034.

32. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007;87: 315-424.
33. Lim W, Kim J-H, Gook E, Kim J, Ko Y, Kim I, Kwon H, Lim H, Jung B, Yang K, Choi N, Kim M, Kim S, Choi H, Kim O. Inhibition of mitochondria-dependent apoptosis by 635-nm irradiation in sodium nitroprusside-treated SH-SY5Y cells. *Free Radical Biology and Medicine* 2009; 47:850-857.
34. Lim W, Ko M, Lee S, Kim I, Jung M, Kim O, Cho S, Yang K, Choi N, Kim S, Choi H. Ultraviolet-C-Induced Apoptosis Protected by 635-nm Laser Irradiation in Human Gingival Fibroblasts. *Photomedicine and Laser Surgery* 2008;26:215-220.
35. Kumar I, Staton CA, Cross SS, Reed MW, Brown NJ. Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and its receptors in human surgical wounds. *Br J Surg* 2009;96: 1484-1491.
36. Lee EY, Xia Y, Kim WS, Kim MH, Kim TH, Kim KJ, Park BS, Sung JH. Hypoxia-enhanced wound-healing function of adipose-derived stem cells: increase in stem cell proliferation and up-regulation of VEGF and bFGF. *Wound Repair Regen* 2009;17:540-547.
37. Wang D, Weng Q, Zhang L, He Q, Yang B. VEGF and Bcl-2 interact via MAPKs signaling pathway in the response to hypoxia in neuroblastoma. *Cell Mol Neurobiol* 2009;29:391-401.
38. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669-676.
39. Ushio-Fukai M, Alexander RW. Reactive oxygen species as mediators of angiogenesis signaling. Role of NAD (P) H oxidase. *Molecular and cellular biochemistry* 2005;264:85-97.
40. Irwin DC, McCord JM, Nozik-Grayck E, Beckly G, Foreman B, Sullivan T, White M, T. Crossno JJ, Bailey D, Flores SC, Majka S, Klemm D, van Patot MC. A potential role for reactive oxygen species and the HIF-1alpha-VEGF pathway in hypoxia-induced pulmonary vascular leak. *Free Radic Biol Med* 2009;47: 55-61.
41. No JH, Jo H, Kim SH, Park IA, Kang D, Han SS, Kim JW, Park NH, Kang SB, Song YS. Expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia inducible factor-1alpha in cervical neoplasia. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1171:105-110.
42. Ushio-Fukai M. VEGF signaling through NADPH oxidase-derived ROS. *Antioxidants & Redox Signaling* 2007; 9:731-739.
43. Lim WB, Kim JS, Ko YJ, Kwon H, Kim SW, Min HK, Kim O, Choi HR, Kim OJ. Effects of 635nm light-emitting diode irradiation on angiogenesis in CoCl₂-exposed HUVECs. *Lasers in Surgery and Medicine* 2011;43: 344-352.