

氏名(本籍地) 大河内瑠夏(埼玉県)
 学位記および番号 歯学博士, 甲 第274号
 学位授与の日付 平成21年3月10日
 学位論文題名 「ラット脛骨における炭酸ガスレーザー骨誘導初期変化について」
 論文審査委員 (主査) 堀内 登教授
 (副査) 福岡 章教授
 木村裕一教授
 横瀬敏志教授

論文の内容および審査の要旨

【研究目的】炭酸ガスレーザーは高出力レーザーに分類され、現在歯科治療においてその多様性は注目を集めている。その生物学的な作用は、レーザー照射時に起こる表面組織の蒸散などのhigh level laser treatment(HLLT)作用と、照射部周囲におこる細胞増殖、創傷治癒促進などのlow level laser treatment(LLLT)作用に分けられ、炭酸ガスレーザーはそれらを比較的容易にコントロールできる。最近ではレーザー照射などのメカニカルフォースを骨細胞が認識し、骨誘導を促進することも明らかになっている。そこで骨誘導時、骨細胞や骨芽細胞でどのような初期変化が起こっているのか調べるため、ラット脛骨を用いて形態学的ならびに分子生物学的に解析を行ったので報告する。

【材料および方法】8週齢の雌性SDラット各群10匹を用いた。脛骨に観血的な処置を行い、骨表面に直接炭酸ガスレーザー(オペレーターLite: YOSHIDA)を照射した。右側脛骨に歯科用ラウンドバーにて骨欠損をつくり、左側脛骨には出力3.0W、照射距離は約5.0cmでSP1、照射時間0.9s(照射量約118.9J/cm²)にて4shot照射した。照射後3,6時間、3,5日後にエーテルにて屠殺後、それぞれ左右脛骨を摘出し、4℃、10%中性緩衝ホルマリン液で24時間固定後、脱灰液(EDTA method)にて約20日間脱灰し、エタノール脱水処理後、パラフィンに包埋した。解析法としてH-E染色、免疫組織化学的染色(抗osteopontin抗体、抗Lef-1抗体、抗sclerostin抗体)を行い、リアルタイムPCRによってosteopontin mRNA発現量を調べた。

【結果】H-E染色では炭酸ガスレーザー照射後、3日目にはラウンドバーによるコントロール群とレーザー照射群とは大きな差は見られないが、5日目にはレーザー照射部位の骨髄側に類骨

様の新生骨の形成を認めた。また新生骨形成中、骨髄側の幼弱な骨芽細胞にはosteopontinの発現が認められた。さらにリアルタイムPCRによる解析ではosteopontin mRNAの発現はレーザー照射群の方が有意に高い結果を示した。骨細胞に注目してみると、免疫組織化学的染色ではレーザー照射後3時間から6時間まで照射部位の骨細胞にLef-1が発現し、5日目から新生骨形成が起き始めるとLef-1の発現は見られなくなった。これらに対しWntシグナルの抑制因子であるsclerostinの発現は、Lef-1の発現が強く見られた照射後6時間の骨細胞においてその発現が全く認められず、Lef-1の発現が消失した照射後5日目の骨細胞ではsclerostinの発現が観察されるようになった。

【考察】今回の実験で、炭酸ガスレーザー照射により刺激を感知した骨細胞が骨髄中の骨芽細胞を活性化し、新生骨が形成されることがわかった。骨細胞はメカニカルフォースのシグナルを骨表面の細胞へ伝えるためにWnt/ β -catenin経路を使用することが明らかになっている。新生骨形成までの間Lef-1の発現が見られ、形成が完了する時期にはLef-1は消失しsclerostinが発現することから、Wnt/ β -catenin経路の活性化が示唆される。よって、炭酸ガスレーザーによるメカニカルフォースは通常の機械的負荷と同様、骨細胞に働きかけWnt/ β -catenin経路を刺激し、骨形成に関与することが示唆された。

【結論】炭酸ガスレーザーによるメカニカルフォースによって、骨基質中の骨細胞が活性化され、骨細胞自体がそれを認識し、Wnt/ β -catenin経路を刺激することによって骨髄側の骨髄細胞の活性化を促し、骨形成を促進させることが示唆された。

この論文に対する本審査委員会は、平成21年1月13日に行われた。まず申請者より研究内容の説明があり、その後論文の検討と質疑応答が行われた。各審査委員からの質疑の主なものは、1)炭酸ガスレーザーとメカニカルフォースの定義についての見解、2)LLLT作用の骨に対する影響とメカニカルフォースとしての作用、3)切片の写真の拡大率、4)染色法の選択について、5)メカニカルフォースとosteopontinとの関連性についてであり、いずれも申請者から適切な回答が得られた。また、語句、文章、図の一部について訂正が求められた。審査の結果、本研究で得られた所見は、歯科医学の発展に寄与するものとして、学位授与に値すると判定した。

掲載雑誌

奥羽大学歯学誌 第36巻, 2号 49~59