


(様式3)

平成 25年 11月 12日

## 学位論文内容の要旨

受付番号	第 543 号	氏名	小澤 亮	
論文題名 炭酸ガスレーザー照射後ラット歯肉の組織変化 -Hsp47、テネイシンCおよびフィブロネクチンの発現状況-				
指導教員 伊東博司 教授				

(論文内容の要旨2,000字以内)

パルス波炭酸ガスレーザーは口腔外科を含む外科領域で、組織切開のみならず、病変の凝固や疼痛緩和に使用されている。炭酸ガスレーザー照射後組織の再生期間は比較的短いことが知られているが、この再生過程の短縮がどのような機序によってなされるのかについては不明な点が残されている。そこで、本研究ではラット歯肉に凝固モード炭酸ガスレーザー照射を行い、照射を受けた歯肉でいかなる組織変化が起こっているかを、線維芽細胞の動態および細胞外基質の発現状況に主眼を置いて、病理組織学的および免疫組織化学的に検討し、レーザー照射後の速やかな再生過程のメカニズムを解明することを目的とした。

実験動物として、7~9週齢の雄性Wistar系ラット70頭を用いた。ピークパワー5W、パルス幅600 $\mu$ 秒、休止時間6m秒の照射条件で炭酸ガスレーザーを照射した(レーザー群)。レーザー照射領域にほぼ匹敵する範囲の歯肉を外科用メスにより切除したラットを対照群(メス切除群)とした。レーザー照射後またはメス切除後6時間、1、2、3、7、14、28日後に、麻酔下にてラットを屠殺し、上顎を摘出、パラホルムアルデヒドで固定した。10%EDTAによる脱灰ののち、通法によりパラフィンに包埋、連続切片を作製した。ヘマトキシリン-エオジン染色を切片に施して病理組織学的観察を行い、また、マッソン・トリクローム染色により再生過程におけるコラーゲン線維分布状況の変化を検討した。次いで、免疫組織化学により、活性化線維芽細胞のマーカーとされる熱ショックタンパク47(Hsp47)の発現状況、ならびに、線維芽細胞の活動に必要な細胞外基質である、テネイシンC(TNC)およびフィブロネクチン(FN)それぞれの発現状況を解明した。さらに、線維芽細胞の活性化状況と細胞外基質との時空的關係を明らかにするためにHsp47とテネイシンCの二重免疫染色を行った。

照射6時間後、照射部の粘膜上皮は凝固壊死に陥っていたが、固有層では、変化に乏しかった。3日後、レーザー創内への肉芽組織の進入が明らかとなり、7日後には創の大部分が肉芽組織で置換されていた。照射14日後、肉芽組織での線維形成が進行し、28日後には、正常歯肉と同様の組織像がみられた。メス切除群では切除6時間後に創内は凝血塊などで満たされていた。3日後、肉芽組織が増殖したが、その形成量は不十分で、

7日目でも歯肉固有の形態を回復しなかった。28日後、歯肉は元の外形を回復したが、正常歯肉の組織学的特徴はみられなかった。

レーザー照射1日後、レーザー創に面する結合組織では、正常歯肉と比べHsp47陽性線維芽細胞の数が増加した。3日後、Hsp47陽性細胞がレーザー創内に進入し、7日後にはレーザー創の大部分をHsp47陽性細胞に富む肉芽組織が置換していた。Hsp47陽性細胞の分布密度は14日後にピークに達し、28日後では、分布密度が減少してHsp47陽性細胞の分布様式は、正常歯肉における分布様式と同様になった。メス切除後では1日以降に肉芽組織の線維芽細胞がHsp47を発現したが、発現量は少なかった。切除28日後ではレーザー照射後にみられたHsp47陽性細胞分布密度の低下は認められなかった。

レーザー照射後1日、レーザー創周囲でTNCの新たな発現がみられた。3日以降、発現領域がレーザー創内に拡大し、二重免疫染色で観察するとTNCの局在範囲はHsp47陽性細胞の分布範囲と一致しており、Hsp47陽性細胞の周囲にTNC発現が観察された。照射後7日目には再生歯肉固有層全域がTNCを発現したが、14日以降、陽性反応が歯肉固有層深部において消失し、28日後では正常歯肉のTNC染色所見と同様の所見がみられた。メス切除群では1日後に切除創に隣接する領域でTNC陽性反応が観察され、3日後以降、陽性反応領域が拡大したが、14日後以降でも陽性反応は消失しなかった。

照射6時間後および1日後、FNの分布パターンは正常歯肉におけるFN分布パターンと同様であった。3日後以降、レーザー創内へ進入する肉芽組織はFN発現を欠いていた。7日後、固有層内の、細胞成分に富み、線維化が不十分な領域では発現がみられなかった。28日後、FNは正常歯肉と同様の分布パターンを示していた。メス切除後に増生する肉芽組織でのFN発現は、既存の結合組織に比べ弱かった。28日後、再生歯肉全体がFN発現を示したが、レーザー照射後に比べ発現強度は低かった。

以上の結果から、レーザー照射後のHsp47、TNCおよびFNの発現が正常状態に回復するまでの期間は、メス切除後の回復期間と比べ短いことが確認され、炭酸ガスレーザー照射によって生じた壊死組織は、レーザー創の治癒を促進していることが示唆された。また、TNCの発現状況とFNの発現状況が異なることから、TNCとFNはそれぞれ別のメカニズムにより、新生結合組織細胞の増殖、分化および移動を促進していることが推察された。