

## 培養細胞の増殖におよぼすレーザーの出力と エネルギー密度に関する研究

茂呂祐利子 中川敏浩 安部仁晴

齋藤 勇<sup>1</sup> 山本茂久

### A Study of the Laser Power and Energy Densities Affecting Proliferation of Cultured Cells

Yuriko MORO, Toshihiro NAKAGAWA, Kimiharu AMBE

Isamu SAITO<sup>1</sup> and Shigehisa YAMAMOTO

Low-power laser irradiation on oral tissue is reported to have healing effects caused by accelerating cell growth. However, the effects of high-power laser irradiation on cell growth are unknown. To investigate the effects of high-power laser irradiation on oral tissue, we examined the cell growth of fibroblasts (Balb/3T3(clone) A31), osteoblasts (MC3T3-E1) and epithelial cells (normal human gingival keratinocytes) after laser irradiation *in vitro* using MTT assay.

Cells were cultured during 1 day following laser irradiation once for 30, 60, 90, 120 and 180 seconds with a diode laser ( $830\pm 10\text{nm}$ , GaAlAs diode, continuous wave, 400mW or 800mW). Non-irradiation cells were used as the control group.

As a result, fibroblasts and epithelial cells showed good cell growth under the irradiation of  $3.7\text{mW}/\text{cm}^2$  for 90seconds. The irradiation of  $3.7\text{mW}/\text{cm}^2$  for 90seconds and of  $6.7\text{mW}/\text{cm}^2$  for 60seconds accelerated the cell growth of osteoblasts.

These results suggest that laser irradiation of  $3.7\text{mW}/\text{cm}^2$  for 90seconds accelerates cell growth. In addition, power density ( $\text{mW}/\text{cm}^2$ ) and irradiation time (seconds) are more closely related to cell growth *in vitro* than to energy density ( $\text{J}/\text{cm}^2$ ).

Key words : low-power laser, high-power laser, *in vitro*, power density, energy density

### 緒 言

歯科領域において、高出力レーザー(ハードレーザー)は病巣の除去、切開などに用いられ<sup>1,2)</sup>、これに対し低出力レーザー(ソフトレーザー)は、治癒の促進を期待して、アフタ、口内炎、骨折部および抜歯創などに適用されている<sup>3-10)</sup>。近年、

高出力レーザーの普及にともない、出力を下げ照射時間を短くすることにより、治癒促進を目的に低出力レーザーと同じように用いられる場合がある<sup>3)</sup>。しかし、いまだ低出力レーザーの生体への作用機序が完全に解明されていないにも関わらず、上述のように臨床応用のみ先行しているのが現状であり、高出力レーザーの細胞および組織に対す

受付：平成15年8月5日，受理：平成15年10月16日  
奥羽大学歯学部口腔解剖学第Ⅱ講座  
奥羽大学歯学部口腔細菌学講座<sup>1</sup>

Second Department of Oral Anatomy,  
Oral Bacteriology<sup>1</sup>,  
Oju University School of Dentistry

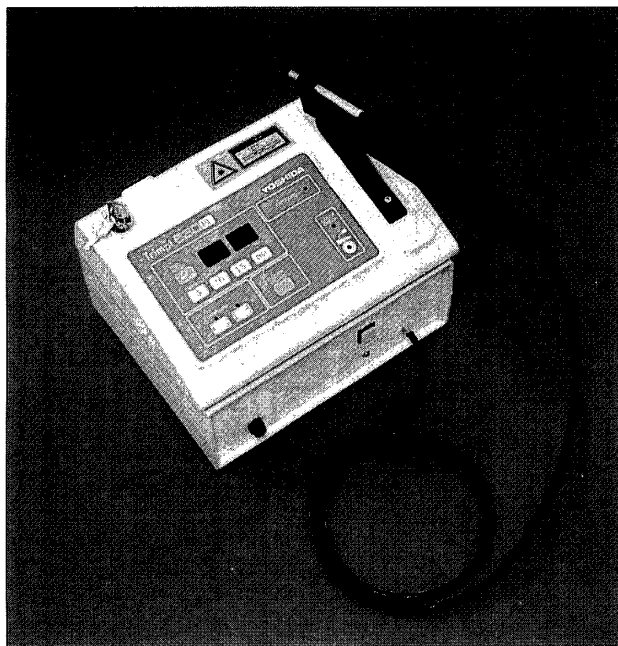


図1 実験に用いた半導体レーザー装置 Trinpl 830 PU  
(試作機, 株式会社吉田製作所)

る作用の解明が急務となっている。

一方, これまで我々は, 各種培養細胞に低出力半導体レーザーを照射すると, 増殖が促進することを報告してきた<sup>11-14)</sup>。そこで今回, 400mWおよび800mWで照射可能な高出力半導体レーザーを使用し, 線維芽細胞, 骨芽細胞, および上皮細胞の細胞増殖におよぼすレーザーの出力密度とエネルギー密度の影響について検討した。

## 材料および方法

### 1. レーザー装置および光パワーメータ

1) レーザー装置は, 株式会社吉田製作所製 Trinpl 830 PU (試作機) を使用した (図1)。この装置は, 半導体 (GaAlAs) を媒体とし, 波長 $830 \pm 10$ nm, 連続波, 400mWあるいは800mWの出力にて放出が可能である。

2) 光パワーメータは, 受光部領域が $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ のOPTICAL POWER METER TQ8210 (ADVANTEST, 東京) を使用し, 波長830nmのレーザー出力 (mW) を測定した。なお, 測定には, デジタルスムージング ( $\times 3$ ) 機能を用い出力の値を求めた。

### 2. 細胞と培養方法

1) 線維芽細胞は, マウス由来線維芽細胞株

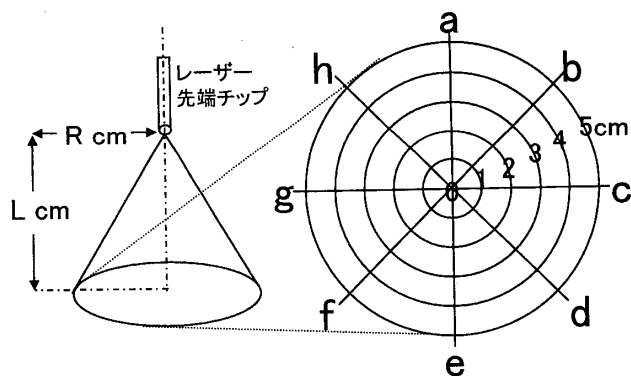


図2 レーザー出力の測定部位

R: 半径,  $R = 0, 1, 2, 3, 4, 5$  (cm) の円周上の8点 (a~h) を測定する  
L: レーザー先端チップから測定部位の距離,  $L = 10, 15, 20, 25, 30$  (cm) を測定する

Balb3T3-A31<sup>15)</sup>を用い, Dulbecco's Modification Eagle's Medium (DMEM) (三光純薬, 東京) に牛胎児血清 (FBS) を10%加え, 硫酸カナマイシン (明治製菓, 東京) を $80 \mu\text{g}/\text{ml}$ の割合で添加し培養した。

2) 骨芽細胞は, マウス由来骨原性細胞株 MC3T3-E1<sup>16,17)</sup>を用い,  $\alpha$ -Modification of Eagle's Minimum Essential Medium ( $\alpha$ -MEM) (Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA) にFBSを10%加え, 硫酸カナマイシンを $80 \mu\text{g}/\text{ml}$ の割合で添加し培養した。

3) 上皮細胞は, 正常ヒト歯肉由来上皮細胞<sup>12)</sup>を用い, Keratinocyte growth medium-2 (KGM-2) (Clonetics, USA) (K-BM基礎培地500mlに epidermal growth factor human 0.5ml (50ng/ml), insulin 0.5ml ( $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ), hydrocortisone 0.5ml ( $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ), BPE (bovine pituitary extract) 2ml, gentamycin sulfateおよびamphotericin-Bの混合液0.5ml, transferrin 0.5mlおよび epinephrine 0.5mlを添加) で培養した。

なお, これらの細胞は,  $37^\circ\text{C}$ , 湿度100%, 5%  $\text{CO}_2$ 下にて培養し, 0.02% Trypsin-0.05% EDTA-PBS (Dulbecco's phosphate buffered saline) で分散, 継代した。

### 3. レーザー照射条件の検討

#### 1) レーザー出力の測定

レーザー照射口先端チップを耐水ペーパー #600にて研磨し平坦にした後, レーザー出力 (mW)

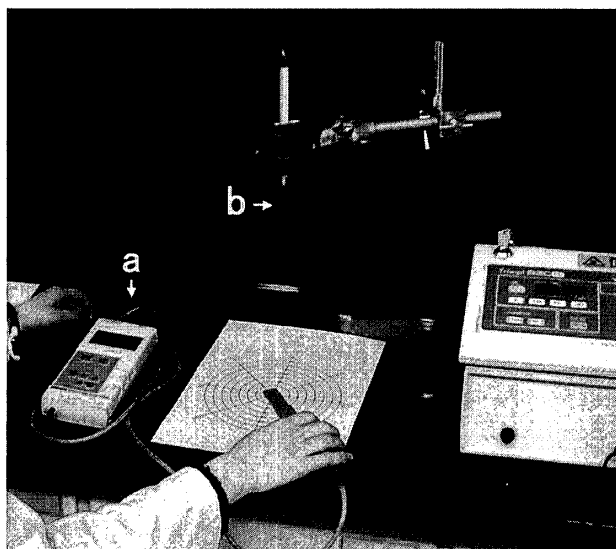


図3 レーザー出力の測定

a: 光パワーメータ, b: レーザー先端チップ

を次の手法にて測定した(図2, 3)。すなわち先端チップからの距離(L)が10, 15, 20, 25, 30cmの垂直な位置を中心とし、半径(R)が1, 2, 3, 4, 5cmの円周上の各8点を光パワーメータにて計測し、平均値を求めた。

#### 2) レーザー照射による培地の温度変化の測定

培地の温度変化の測定には、DMEM,  $\alpha$ -MEM, KGM-2のそれぞれの培地およびPBSを $\phi$ 35mm dish (SUMILON, 東京)に2.81ml加え、デジタル温度計(E52-PT 20A 30 $\phi$ , OMRON)先端をdish内の液中央に浸漬し、CO<sub>2</sub>インキュベータ内に1時間静置後、dish上面からレーザーを照射し、培地の温度変化を2分毎に10分間測定した。

#### 3) 培地および培養dishのレーザー透過率の測定

培養細胞表面へ照射されるレーザー出力を測定するために、培地入りdishのレーザー透過率を測定した。測定には、上記の2)と同様な環境下で、dishの上蓋を除き培地が入っている状態で、レーザーをdish上面から照射し、dish底面のレーザー出力を光パワーメータにて測定し、レーザー透過率(%)を算出した。なお、予備実験で、dish上蓋のレーザー透過率を測定したところ、レーザー先端チップからの距離が25cmの条件で、400mW照射時においては95.45 $\pm$ 0.58%, 800mW照射時では95.04 $\pm$ 0.58%であり、dish本体、および96well

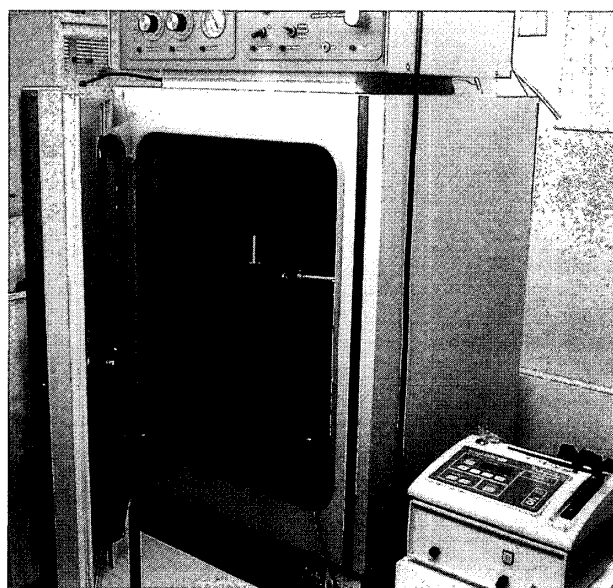


図4 培養細胞へのレーザー照射

インキュベータ内に設置したレーザー先端チップと96wellプレート

プレート蓋とほぼ同じであった。

#### 4. 細胞増殖の測定

マイクロプレート96well (平型) (SUMILON, 東京)を使用し、細胞を5000個/wellを12wellに播種し、24時間後、CO<sub>2</sub>インキュベータ内にてレーザーをプレート上面より照射した(図4)。照射条件は、レーザー先端チップからプレート底面までの距離が25cmで、400mWあるいは800mWで30, 60, 90, 120, 180秒間照射し(照射群)、照射しないものを対照とした(非照射群)。細胞増殖の測定は、照射24時間後にMTT比色定量法(Cell-Counting Kit8, 同仁堂, 熊本)を用い、EIAリーダー(Model 2550, BIO-RAD)にて波長450nmの吸光度を測定した。

### 結 果

#### 1. レーザー照射条件

##### 1) レーザー先端チップの形状について

レーザー先端の石英ファイバーを鋭角に研磨すると(図5-a)、20秒間照射で、400mW, 800mWともにサンプルのソーセージの切開が可能であったのに対し(図5-b, -c)、平坦な場合(図5-d)は、400mWあるいは800mWにおいても切開が不可能であった(図5-e, -f)。

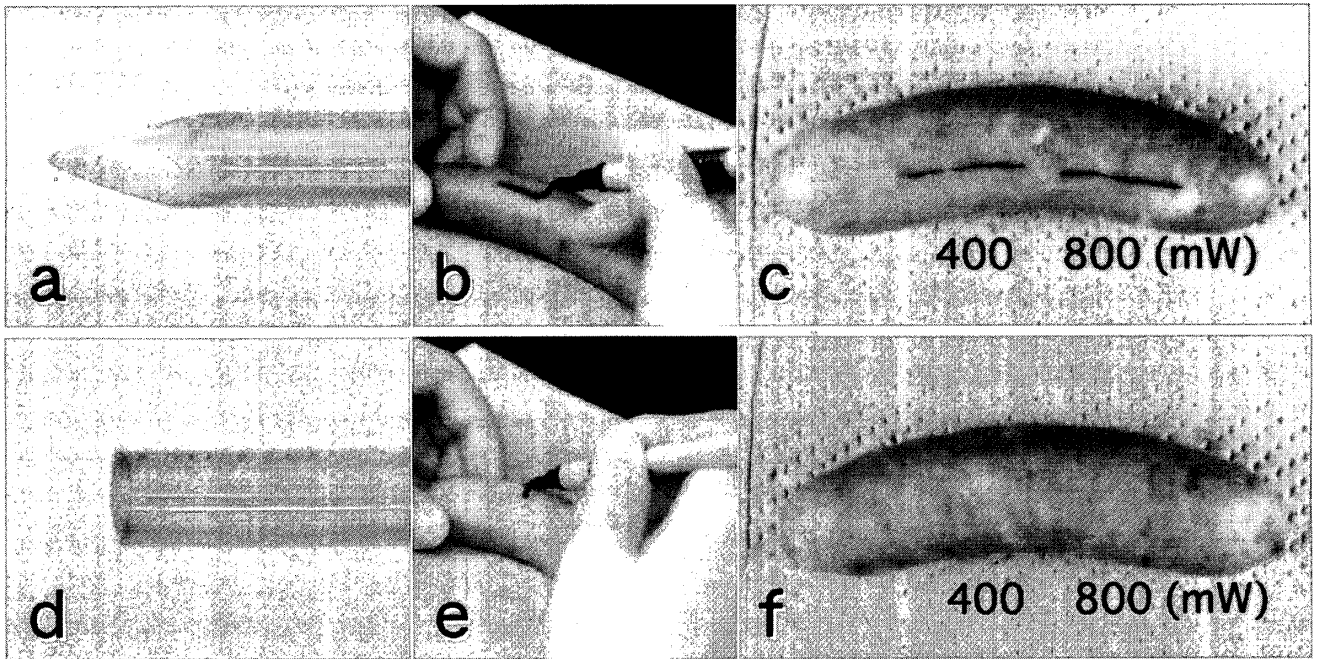


図5 レーザー先端チップの形状について

a~c: シarpなレーザー先端チップによるソーセージの切開, 400mWおよび800mWともに切開可能

d~f: 平坦なレーザー先端チップによるソーセージの切開, 400mWあるいは800mWにおいても切開不可能

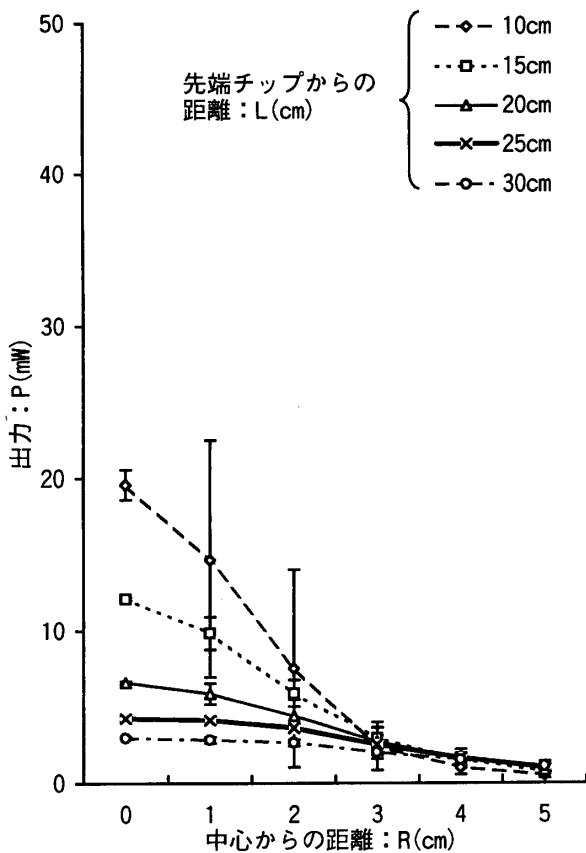


図6 レーザー先端チップからの距離と中心からの距離の違いによるレーザー出力の推移 (400mW照射時)

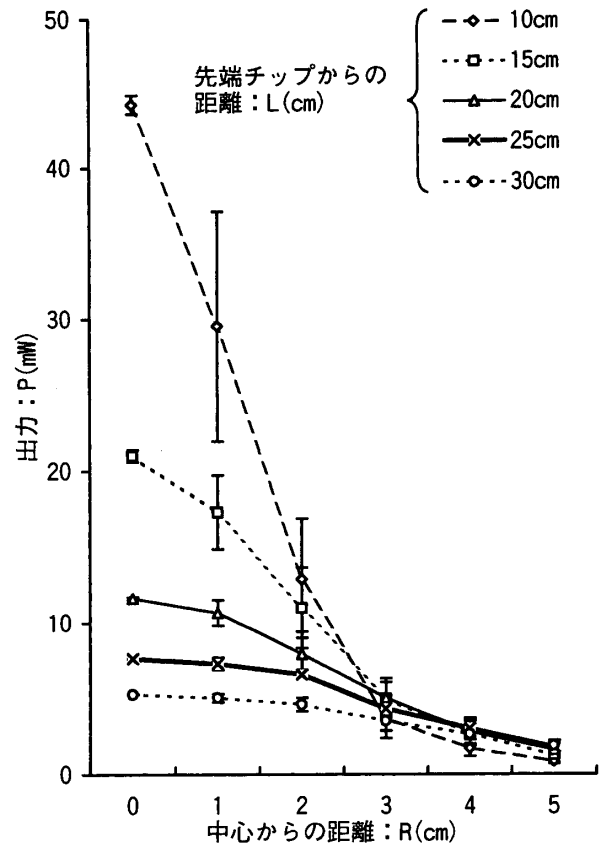


図7 レーザー先端チップからの距離と中心からの距離の違いによるレーザー出力の推移 (800mW照射時)

表1 レーザー照射による培地の温度変化

非照射群

	0分	2分	4分	6分	8分	10分
PBS	31.2±0.1	31.2±0.1	31.2±0.1	31.1±0.0	31.0±0.0	30.9±0.0
$\alpha$ -MEM	31.6±0.8	31.6±0.8	31.6±0.9	31.5±1.0	31.5±1.0	31.5±1.0
DMEM	31.5±0.0	31.6±0.1	31.7±0.1	31.8±0.0	31.8±0.1	31.9±0.0
KGM-2	31.9±0.1	32.0±0.1	32.1±0.0	32.2±0.0	32.2±0.1	32.2±0.0

(°C)

400mW(180秒照射)

	0分	2分	4分	6分	8分	10分
PBS	31.3±0.1	31.4±0.0	31.2±0.1	31.1±0.0	31.0±0.0	30.9±0.1
$\alpha$ -MEM	31.6±0.0	31.7±0.1	31.7±0.0	31.6±0.0	31.6±0.0	31.5±0.1
DMEM	31.2±0.0	31.2±0.0	31.1±0.0	31.0±0.0	30.9±0.0	30.9±0.0
KGM-2	31.9±0.2	32.3±0.1	32.6±0.1	32.7±0.1	32.5±0.1	32.7±0.0

(°C)

800mW(180秒照射)

	0分	2分	4分	6分	8分	10分
PBS	31.7±0.1	31.2±0.1	31.4±0.1	31.2±0.0	31.0±0.1	31.0±0.1
$\alpha$ -MEM	32.0±0.1	31.7±0.1	31.4±0.1	31.2±0.0	30.9±0.1	30.8±0.1
DMEM	31.7±0.1	31.6±0.1	31.1±0.1	30.8±0.1	30.6±0.1	30.5±0.1
KGM-2	32.0±0.1	32.1±0.0	32.1±0.1	32.0±0.1	32.1±0.0	32.1±0.1

(°C)

## 2) レーザー出力

レーザー先端チップからの距離L (cm) とレーザー出力P (mW) では、400mW照射時(図6)および800mW照射時(図7)ともに、Lが増加すると、Pが減少した。400mWおよび800mW照射時で、中心(R=0 cm)においては、L=10cmを基準にL=20cmを比較すると、約1/4にPが減少し、L=15cmを基準にL=30cmを比較すると、同様に約1/4にPが減少していた。

一方、レーザーの広がり、L=10cmにおいては、R=0 cmを基準に、R=1 cmのPは約2/3であり、R=2 cmは約1/3と、中心から離れると急激にPの減少が起こった。L=15cmにおいては、R=0 cmと比較し、R=1 cmのPは約4/5であり、R=2 cmは約1/2と、中心からの距離が増加するとPが減少するものの、その減少傾向は緩やかとなっており、L=25cmおよび30cmにおいては、R=0, 1, 2 cmのレーザー出力は±7.5%の範囲で同様の値となった(図6, 7)。そこで、今回のレーザーの照射条件は、半径2 cm内で均等なレーザー出力になり、最も高いレーザー出力が得られるL=25cmとし、以下の実験に使用した。

## 3) レーザー照射による培地の温度変化

レーザー照射による培地中の温度変化は(表1), DMEM,  $\alpha$ -MEM, KGM-2およびPBSのすべて

表2 培地および培養dishのレーザー透過率

	400mW	800mW
PBS	95.44±2.38	94.38±2.37
KGM-2	95.28±1.80	94.21±0.81
DMEM	94.02±0.57	93.55±0.24
$\alpha$ -MEM	93.89±1.59	94.31±1.08
平均	94.66±0.76	94.12±0.90

(%)

において、非照射群と変化がなく、10分を経過した時点においても、照射前と同様の温度であった(t-test,  $p<0.05$ )。

## 4) 培地および培養dishのレーザー透過率

培地の種類およびPBSでのレーザー透過率には差が認められず(t-test,  $p<0.05$ )、400mW照射時で約95%、800mW照射時で約94%の透過率であった(表2)。

## 2. レーザー照射後の細胞増殖

## 1) 線維芽細胞

400mW照射時には、90秒照射群(OD450=0.823)が非照射群(OD450=0.746)と比較し110%と最も増殖率が高く、120秒、180秒と照射時間の増加にともない、増殖が抑制される傾向にあった。

一方、800mW照射時には、30秒照射群で増殖の促進が認められず、照射時間の増加にとも

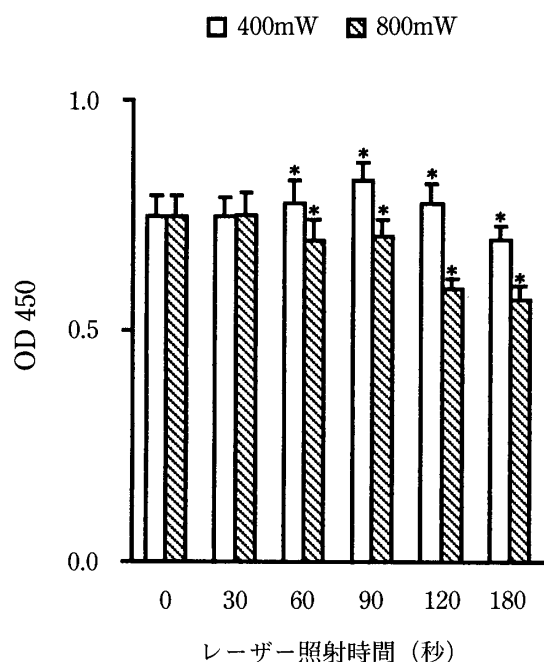


図8 レーザー照射による線維芽細胞の細胞増殖  
(\* : t-test,  $p < 0.05$ ,  $n = 12$ )

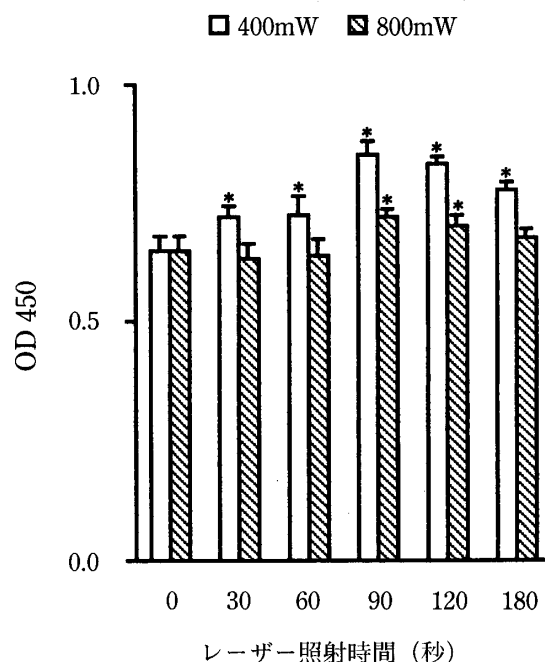


図10 レーザー照射による上皮細胞の細胞増殖  
(\* : t-test,  $p < 0.05$ ,  $n = 12$ )

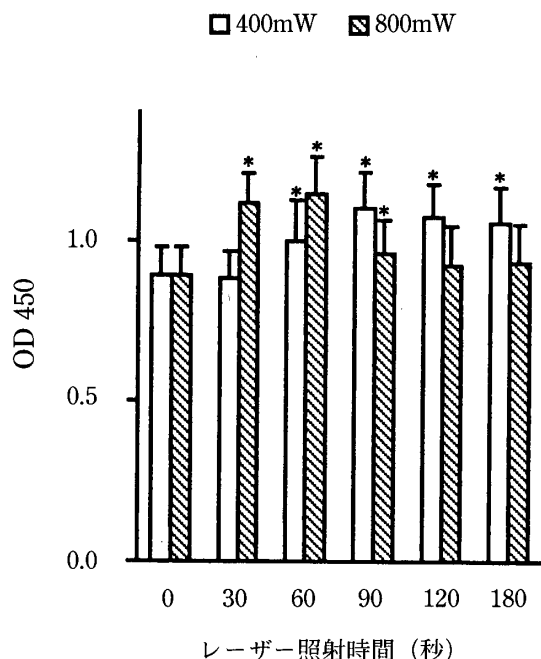


図9 レーザー照射による骨芽細胞の細胞増殖  
(\* : t-test,  $p < 0.05$ ,  $n = 12$ )

ない細胞増殖の抑制傾向が強まり、180秒照射群 (OD450=0.568) においては、非照射群に比較し約75%と増殖が抑制された (図8)。

## 2) 骨芽細胞

400mW照射時には、90秒をピークに60～180秒照射群で増殖の促進が認められ、800mW照射時には、60秒をピークに30～90秒照射群で増殖の促進が認められた。また、800mW60秒照射群 (OD450=1.144) が非照射群 (OD450=0.892) と比較し128%と最も増殖率が高く、さらに、800mW照射時には、120秒以上になると、細胞増殖が認められなかった (図9)。

## 3) 上皮細胞

400mW照射時には、30～180秒照射群で増殖の促進が認められ、90秒照射群 (OD450=0.851) は非照射群 (OD450=0.647) と比較し130%と最も増殖率が高かった。

一方、800mW照射時には、90～120秒照射群でわずかな増殖が認められた (図10)。

## 考 察

低出力レーザーは、細胞、組織への傷害を招くことなく治癒を促進し、副作用もほとんどないとされている<sup>18)</sup>。一方、高出力レーザーは、その高いエネルギーで、組織の蒸散、切開などが可能であるため、出力を下げ照射時間を短縮しても、細

胞，組織に対する危険性は変わらない。そこで，400mWおよび800mWの出力にて照射可能な高出力半導体レーザーを使用し，出力および照射時間による細胞増殖の違いについて，*in vitro*で検討を行った。

実験に使用した装置は，中高出力で放出可能な半導体レーザー装置であり，先端チップの石英ファイバーを鋭角に研磨することにより，軟組織の切開も十分可能な出力を有する。しかしながら，平坦に加工することで，レーザーが集積せず，出力密度 ( $\text{mW}/\text{cm}^2$ ) が小さくなり，細胞組織を蒸散することができなくなる (図5)。そこで，レーザーを培養細胞に照射するにあたり，まず，レーザーの広がりとお出力分布について検討を行った。細胞にできるだけ均一のレーザー照射を行うため，半径2cm以内で同程度のレーザー出力の得られる条件として，レーザー先端チップから25cmの距離が最適であるという照射条件が得られた (図6，7)。

さらに，高出力でレーザーを培養細胞へ照射する上では，熱による物理的影響の有無について考慮する必要がある。そこで，培地中の温度を計測した結果，培地中の温度上昇は認められなかった。一般に，低出力レーザーの有する生物活性は，熱作用ではないとされている<sup>18)</sup>。これにより，本レーザーの培養細胞に対する作用は，熱によって生じたものではないことが確認された。

一方，400mWおよび800mWの出力でレーザーを照射すると，レーザー先端チップから距離25cmのレーザー出力は $R=0$ において $3.9 \pm 0.3 \text{ mW}$ および $7.1 \pm 0.4 \text{ mW}$ となる (図6，7)。各種培地のレーザー透過率を考慮すると，400mW照射時に，細胞へは5%程度減少しておよそ $3.7 \text{ mW}$ となり，800mW照射時には6%程度減少し，およそ $6.7 \text{ mW}$ のレーザー出力となる (表2)。さらに，計測に用いたパワーメータの受光領域部が $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ であることから，出力密度は，400mW照射時に $3.7 \text{ mW}/\text{cm}^2$ となり，800mW照射時に $6.7 \text{ mW}/\text{cm}^2$ となる。

各種培養細胞の増殖におよぼす影響について，まず，線維芽細胞では，400mW照射時において，90秒間照射群がもっとも細胞の増殖が顕著であり，180秒照射群では，増殖が抑制される傾向にあっ

た。一方，800mW照射時においては，30秒照射群でも増加がほとんど認められず，照射時間が長くなれば，細胞の増殖抑制傾向が強くなった。

さて，エネルギー密度 ( $\text{J}/\text{cm}^2$ ) の面から考えると，もっとも細胞増殖が顕著な，400mW90秒間照射群では， $333 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  [ $3.7 \text{ mW}/\text{cm}^2 \times (90 \text{ 秒})$ ] となり，800mW30～60秒照射群では $201 \sim 402 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  [ $6.7 \text{ mW}/\text{cm}^2 \times (30 \sim 60 \text{ 秒})$ ] となる。仮に，800mW50秒照射群 ( $335 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) であれば，400mW90秒間照射群 ( $333 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) とほぼ同程度のエネルギー密度を有することとなるが，その増殖率は図8より推測すると，ほとんど非照射群と同程度であろう。すなわち，線維芽細胞の増殖促進作用は，高出力で短時間照射するよりも低いレーザー出力で長時間照射する方が有効であることが明らかとなった。

骨芽細胞においては，線維芽細胞と同様に，400mW照射時では，90秒照射群 ( $333 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) で細胞の増殖が良好であった。しかし，800mW照射時では，30～60秒間照射群 ( $201 \sim 402 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) で，400mW照射時よりも，さらに高い増殖率を示した。800mWにおいては，90秒以上の照射により急激に増殖が抑制されることから，出力が高い場合は，照射時間の見極めに注意が必要であろう。

また，400mWでは，90秒照射群で細胞増殖がピークとなり，照射時間の延長にともない細胞の増殖率が減少した。さらに，800mW照射時でも同様に，60秒照射群で増殖がピークを示し，120秒以上では増殖がまったくみられなくなった。このことは，1つの出力密度において，細胞がもっとも増殖する至適な照射時間が存在することを表しており，細胞増殖を期待しレーザー照射する場合は，出力密度および照射時間が重要な因子であることが確認された。

上皮細胞においては，400mW90～120秒間照射群 ( $333 \sim 444 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) の細胞増殖がもっとも顕著であり，同程度のエネルギー密度の800mW30～60秒間照射群 ( $201 \sim 402 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) よりも増殖率が高かった。さらに，800mW時では90～120秒照射群の増殖率が高かった。以上の点から，上皮細胞においては，エネルギー密度よりもむしろ，出力密度および照射時間が重要な因子であることが考えら

れる。

レーザー照射後の細胞活性にはエネルギー密度が関係しているとの報告<sup>18)</sup>があるものの、今回の結果からは、エネルギー密度よりむしろ、出力密度および照射時間が重要であることが確認された。また、レーザーの過照射が、細胞にダメージを与え増殖を抑制したと考えられるが、その増殖抑制にも出力密度および照射時間が深く関係していることが推測される。

これまでの低出力レーザーの生物活性についての報告<sup>18)</sup>では、使用したレーザーの発振源の種類、出力および出力密度、エネルギー密度、細胞の種類など、照射条件がそれぞれ異なっている。今回の結果からは、細胞に対しレーザーが照射される場合、線維芽細胞であれば $3.7\text{mW}/\text{cm}^2$  90秒照射、骨芽細胞では $6.7\text{mW}/\text{cm}^2$  60秒照射、そして、上皮細胞では $3.7\text{mW}/\text{cm}^2$  90秒照射が最適であり、細胞それぞれに至適照射条件が存在するものと考えられる。このことから、創傷部の治癒促進を期待しレーザーを用いる場合は、ターゲットとなる細胞に対し、それぞれの至適照射条件下でレーザー照射されることが望まれる。しかしながら、種々の細胞が複雑に組織を構築している生体に対し、個々の細胞をターゲットにするのは不可能であり、レーザーの透過、吸収、反射、散乱などを考慮しなければならず、本実験結果を臨床に応用するためには、さらに検討を加えなければならないと思われる。

本実験系の結果のみを踏まえ、生体への応用条件を導くと、骨芽細胞では、線維芽細胞および上皮細胞と同様に $3.7\text{mW}/\text{cm}^2$  90秒照射群で、良好な細胞増殖が認められたことから、線維芽細胞、骨芽細胞、上皮細胞が増殖する $3.7\text{mW}/\text{cm}^2$  90秒照射がもっとも細胞を増殖させ、治癒を促進する可能性があるといえる。また、過度な出力密度および照射時間でレーザーを過照射することで、細胞の増殖能を大きく抑制することから、治癒促進効果を期待し照射する場合は、出力密度および照射時間に注意することが必須条件となるであろう。そして、高出力半導体レーザーを創傷部に短時間照射し、治癒促進効果を期待する手法は、細胞レベルでのさらなる検証が必要である。

## 結 論

各種培養細胞の増殖におよぼすレーザーの出力密度とエネルギー密度の影響について検索を行い、以下の結論を得た。

1. 線維芽細胞および上皮細胞はレーザー出力400mWで、骨芽細胞は800mWで細胞増殖における至適条件が得られた。

2. 照射エネルギー密度が同じであっても、レーザーの出力密度が異なれば、細胞の増殖率は異なる。

3. レーザーによる細胞の増殖促進には、エネルギー密度よりもレーザーの出力密度が重要な要素と考えられる。

以上の結果から、半導体レーザーは、培養線維芽細胞、骨芽細胞および上皮細胞の増殖を活性化させるが、細胞の種類によって至適なレーザー出力密度が異なる。また、過度の照射によっては、細胞の増殖が抑制される。

## 文 献

- 1) 加藤治文, 古川欣也, 奥仲哲也, 酒井治正ほか: 高出力半導体レーザーの臨床評価. 日本レーザー医学会誌 **19**; 13-18 1998.
- 2) 大澤孝行, 村井睦彦, 橋本賢二: 口腔軟組織に対するレーザー応用 (半導体レーザー, Er: YAGレーザー). 別冊ザ・クインテッセンス 歯科用レーザー・21世紀の展望パート1 (森岡俊夫編) 2001別冊; 188-190 クインテッセンス出版 東京 2001.
- 3) 西山俊夫: 高出力半導体レーザーをソフトレーザー的に応用. デンタルダイヤモンド臨時増刊号 歯科用レーザーの最前線・各疾患への臨床応用 (松本光吉編) 第1版; 186 デンタルダイヤモンド社 東京 1999.
- 4) Mester, E., Spiry, T., Szende, B. and Tota, J. G.: Effect of laser radiation on the wound healing. *Z Exp Chir* **4**; 307-312 1971.
- 5) Trellas, M. A. and Mayayo, E.: Bone fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers Surg Med* **7**; 36-45 1987.
- 6) Anneroth, G., Hall, G., Ryden, H. and Zetterqvist, L.: The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. *Br J Oral Maxillofac Surg* **26**; 12-17 1988.
- 7) Braverman, B., McCarthy, R. J., Ivankovich, A. D., Forde, D. E. *et al.*: Effect of helium-neon and infrared laser irradiation on wound heal-



- ing in rabbits. *Lasers Surg Med* **9**; 50-58 1989.
- 8) 米沢卓美, 小野村敏信: 整形外科とレーザー. *日本レーザー医学会誌* **15**; 43-49 1994.
- 9) 葛西眞一, 山本康弘, 小谷裕美, 安藤修敏ほか: 損傷・潰瘍の治療. *日本レーザー医学会誌* **18**; 27-34 1997.
- 10) 坂田篤信: 口内炎・口角炎・ヘルペスに対する処置. *デンタルダイヤモンド臨時増刊号 歯科用レーザーの最前線・各疾患への臨床応用* (松本光吉編) 第1版; 128-129 *デンタルダイヤモンド社* 東京 1999.
- 11) 土肥宏樹, 高木茂樹, 中川敏浩, 安部仁晴ほか: 低出力レーザー照射が培養細胞の増殖に及ぼす影響. *日本口腔組織培養研究会誌* **4**; 29-36 1994.
- 12) 土肥宏樹: ヒト歯肉上皮細胞に対する低出力レーザーの作用機序. *奥羽大歯学誌* **28**; 105-117 2001.
- 13) 山本茂久, 齋藤 勇, 中川敏浩: 培養細胞におよぼすソフトレーザーの生物学的作用. *日本口腔組織培養学会誌* **8**; 1-11 1999.
- 14) 高木茂樹: 骨系細胞に対するソフトレーザーの効果. *奥羽大歯学誌* **22**; 280-287 1995.
- 15) B. Goldberg: Collagen synthesis as a marker for cell type in mouse 3T3 lines. *Cell* **11**; 169-172 1977.
- 16) Kodama, H., Amagai, Y., Sudo, H., Kasai, S. *et al.*: Establishment of a clonal osteogenic cell line from newborn mouse calvaria. *J Oral Biol* **23**; 899-901 1981.
- 17) Sudo, H., Kodama, H., Amagai, Y., Yamamoto, S. *et al.*: *In vitro* differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria. *J Cell Biol* **96**; 191-198 1983.
- 18) 守本祐司, 荒井恒憲: 低出力レーザー生体作用の生物学的立場からの考察. *日本レーザー医学会誌* **18**; 9-17 1997.
- 著者への連絡先: 茂呂祐利子, (〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部口腔解剖学第Ⅱ講座  
Reprint requests: Yuriko MORO, Second Department of Oral Anatomy, Ohi University School of Dentistry 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan