

氏名（本籍地） 茂呂祐利子（栃木県）  
 学位記および番号 歯学博士，甲 第238号  
 学位授与の日付 平成18年3月10日  
 学位論文題名 「半導体レーザー照射が血管  
 新生におよぼす影響」  
 論文審査委員（主査）山本茂久教授  
 （副査）伊藤一三教授  
 大野 敬教授  
 横瀬敏志教授

### 論文の内容および審査の要旨

血管新生は胎生期における組織の発生や発育，あるいは創傷治癒にとって不可欠であり，歯科領域においては治癒の促進や，歯周組織の再生等を目的に低出力レーザーを用いることは，臨床においてしばしばみられる。これまで，低出力レーザーの細胞レベルでの影響については，線維芽細胞，上皮細胞などで細胞の増殖，分化が促進されるとの報告があるものの，血管新生に対する低出力レーザーの影響についての研究は極めて少ない。そこで本研究では，レーザー照射の血管新生に対する影響を検索する目的で，血管内皮細胞を用い，特に血管新生因子の動態に着目し，その定量的および形態的観察を行った。

材料は正常ヒト微小血管内皮細胞（クラボウ，大阪）を用い，レーザー装置はTrinpl 830 PU（試作機：ヨシダ，東京）を使用した。実験方法は，レーザーの至適照射条件を測定後，その至適条件下にて1日1回照射し（照射群），しないものを対象とした（非照射群）。内皮細胞の増殖実験および三次元培養実験にて，内皮細胞の増殖を定量的・形態的に確認後，VEGF-VEGFR系，VE-cadherin， $\beta$ -catenin，Angiopoietin-Tie系をELISAにて測定し，細胞内の局在については蛍光抗体法を用いて検索を行った。

その結果，レーザー出力800mW-60秒照射で本研究の至適照射条件が得られ，さらに今回，三次元培養による実験結果から，レーザー照射により内皮細胞の増殖，遊走，接着および管腔形成のすべての過程が非照射群に比べ早期に認められた。

この結果から，レーザー照射による血管新生の促進には，これを引き起こす血管新生因子の影響が大きいものと推測され，さらにそれぞれの因子について検索を行った。

VEGF-VEGFRについては，非照射群に比べ照射群でVEGF，Flt-1，KDR/Flk-1それぞれの量が増加した。またVEGFは粗面小胞体上に，Flt-1，KDR/Flk-1は細胞膜上に分布し，照射群で発現が増強していた。VE-cadherin， $\beta$ -cateninも同様に非照射群に比べ照射群において合成量が増加し，その発現は細胞-細胞間の辺縁部に認められ，照射群において増強していた。さらにAng-Tie系については，単層培養下でAng-1，Tie2の合成量，発現は増加したが，Ang-2に変化は認められなかった。一方，三次元培養下ではAng-1の減少，Ang-2の増加がみられ，照射群においての亢進が認められた。

以上の結果から，至適条件下でのレーザー照射により血管内皮細胞は活性化され，血管新生因子の実現を増強することで，細胞の増殖，接着，管腔形成を促進し，その結果，血管新生を促進することが明らかとなった。

この論文に対する本審査委員会では，まず主査より本研究を行うに至った経過について説明があり，次いで申請者より論文内容の説明が行われ，その後，論文の検討と質疑応答が行われた。審査委員からの質疑の主なものは1) 実験材料 2) 蛍光染色における強弱の判断基準 3) Angiopoietin-1，-2の役割 4) Angiopoietin-1，-2の増減 5) 本実験の臨床応用についてであり，いずれも申請者から適切な回答が得られ，主査からも補足説明が加えられた。また，語句，文章，図の一部について，よりの確な表現に変更するよう訂正と追加が求められた。審査の結果，本研究で得られた所見は，低出力レーザー照射が血管新生を促進することを明らかにし，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

日本レーザー歯学会誌 第17巻，2号 104～117