

1) 超音波照射が骨代謝に及ぼす影響について

○和田 隆史

(奥羽大・大学院・保存修復)

【目的】現在、低出力パルス超音波は医科領域での骨折治療に用いられ、その他でも様々な治療に使われ始めている注目の治療機材である。しかし、超音波が骨組織にどのように作用して骨再生を行っているかという基礎的知見はあまり知られていない。そこで、今回、超音波をメカニカルフォースとして捉え、超音波照射により骨欠損ラットの骨代謝にどのように作用しているかを軟エックス線、DEXA、三点曲げ試験、骨形態計測、ヘマトキシリンエオジン染色、免疫組織学的染色を行うことにより基礎的知見を得るために実験を行った。

【材料と方法】ラット脛骨に骨欠損を制作し超音波照射を毎日麻酔下で15分行った。ラットは三点曲げ試験グループ、脱灰切片グループ、非脱灰切片グループの3つに分け、非脱灰切片グループには屠殺の2日前と5日前にカルセインの投与を行い、1週、2週、3週、4週にて各々屠殺を行った。脱灰切片グループと非脱灰切片グループはホルマリン固定後、エタノールで洗浄しDEXAと軟エックス線の撮影を行ってから切片の作成を行った。三点曲げ試験グループは屠殺後、生理食塩水にいれ、三点曲げ試験を行った。

【結果】軟エックス線、DEXAでは特に大きな違いは見られなかったが、三点曲げ試験では2週においてはコントロール群と比較してUS群に強度の向上がみられた。HE染色においては2週目以降でコントロール群と比較して明らかにUS群における外骨膜での骨の形成が増加している所見がみられた。アルシアンブルー染色において軟骨の形成が認められなかった。免疫染色においては、1週にてUS群でのオステオポンチンの染色性はUS群、コントロール群ともに欠損部に形成された新生骨の骨芽細胞と骨細胞にみられ、両者の局在には差が見られなかった。カルセインにおける骨形成量の比較では、US群での外骨膜における骨形成量の増加が見られた。

【結論】今回の結果より骨欠損時の治癒過程においては骨折時とは違い、膜内骨化優位の骨の再

生がみられると考えられる。また、低出力超音波パルスは皮質骨(外骨膜)の骨形成を2週目以降から亢進すると考えられる。これより、ラット脛骨欠損部の治癒に対する低出力超音波パルスの作用は、早期に骨膜での骨形成を促進することにより治癒を早めることが示唆された。

2) 骨補填材の骨誘導に炭酸ガスレーザーが及ぼす影響

○安達 仁

(奥羽大・歯・歯科保存)

【目的】近年、歯科保存治療において顎骨の再生治療は重要な課題である。これまでに多くのペプチドやホルモンが骨再生療法のために使用されてきた。我々はこれまでに外部からの力の加わり方に応じて骨が形成されるというWolffの法則に従いメカニカルフォースとして炭酸ガスレーザーを使用し、骨代謝に及ぼす影響を分子生物学レベルで解析してきた。本研究ではscaffoldとして β -TCPを用い、炭酸ガスレーザーと併用することで骨形成作用に対してどのような影響を与えるかを調べるために形態学的に解析した。

【材料と方法】7週齢の雌SDラット左右脛骨に直径2.5mmの骨欠損をデンタルバーにて作製し欠損部に5mgの β -TCP(オスフェリン, オリンプス社製)を挿入。左側の欠損部に10日間、炭酸ガスレーザーを20J/cm²のエネルギー密度で照射(レーザー群)右側はレーザーを照射しない(対照群)とし形態学的解析:H-E染色, TRAP染色, Lectin染色(PNA, RCA-1), アルシアンブルー染色(PH2.5), 軟X線写真, 骨形態計測を行った。

【結果】

- ①レーザーを照射すると骨への置換が早まった。
- ②受傷後の初期変化として、TRAP陽性細胞の数と出現時期にレーザーが影響した。
- ③レーザー照射が骨細胞に影響し β -TCPの骨置換が促進されることが示唆された。
- ④レーザー照射により骨細胞にO-link型の複合糖質の合成が誘導された。

【考察】今回 β -TCPの骨誘導に対する炭酸ガスレーザー照射の影響を調べた結果、レーザーの刺激によって β -TCPの骨置換が対照群に比較し

て有意に早まった。これはレーザーの刺激によって骨代謝が亢進したためと考えられる。また、皮膚を介して照射したレーザー刺激をメカニカルフォースとして皮質骨の骨細胞が認識し、シグナルを伝達して骨代謝に影響している可能性が示唆された。

【結論】炭酸ガスレーザーはラット頸骨の骨欠損に埋入した β -TCPの骨誘導を亢進させた。

3) レーザー照射が血管内皮細胞の一酸化窒素合成に及ぼす影響

○茂呂祐利子, 安部 仁晴, 中川 敏浩
高橋 進也, 渡邊 弘樹
(奥羽大・歯・生体構造
奥羽大・大学院・顎口腔外科)

【目的】近年、レーザー照射がフリーラジカルを変化させ、細胞活性に影響を与えることが報告されている。しかし、レーザー照射によりどのような種類の合成酵素、消去酵素が細胞内で働き、酸化ストレスの制御が行われているのかについては明らかになっていない。今回、出力の異なるレーザー照射後の、血管内皮細胞における一酸化窒素合成酵素の動態変化について形態学的に検索した。

【方法】血管内皮細胞 (HUVEC) を37℃, 5%CO₂存在下にて培養し、半導体レーザーを照射条件を変えて照射した。非照射群 (control), 低出力照射群 (low fluence), 高出力照射群 (high fluence) の3群にわけ、血管内皮細胞における24時間後の一酸化窒素合成酵素 NOS (i-NOS, e-NOS, n-NOS) の発現を免疫酵素抗体法を用いて観察した。

【結果】low fluence では血管内皮細胞の n-NOS, e-NOS 発現は増加したが、i-NOS は著明な変化が見られなかった。high fluence では血管内皮細胞の i-NOS, e-NOS 発現はわずかに増加したが、n-NOS においてはあまり変化が認められなかった。

【考察】出力の異なるレーザー照射後の、血管内皮細胞における一酸化窒素合成酵素の変化について形態学的に検索した結果、血管内皮細胞では low fluence, high fluence 照射とも e-NOS が中心にラジカル制御し、low fluence 照射群では

n-NOS もこれらの制御に強く関与することが明らかとなり、これらのことから血管内皮細胞におけるレーザー照射は血管内皮細胞の一酸化窒素合成を促進し、血管拡張や細胞機能の維持に関与することが示唆された。今後、レーザー照射における一酸化窒素と活性酸素との関連、さらに窒素酸化物による影響についても検索する予定である。

4) 炭酸ガスレーザー凝固モード照射後の血管の再生

○櫻井 裕子, 奥山 典子, 加藤 美奈
伊東 博司, 山崎 章
(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

【目的】近年、組織凝固を目的とした炭酸ガスレーザー照射が、口腔粘膜病変の治療に用いられ効果を上げているが、その科学的裏づけは十分になされていない。本研究では、炭酸ガスレーザー凝固モード照射後の組織の修復過程を明らかにする目的で、血管、特に口蓋動脈の再生に焦点を当て、組織学的に検索した。

【方法】7週齢雄性 Wistar ラットの臼歯部口蓋動脈に、パナソニックレーザー PanalacC05Σ を使用しレーザー照射を行った。照射後 1, 3, 5, 7 日に試料採取を行い、リン酸緩衝 4% パラホルムアルデヒドにて固定行った後、パラフィン包埋した。次いで H-E 染色にて病理組織学的変化を検索し、再生修復する動脈壁での細胞動態を把握するために抗 α -Smooth Muscle Actin 抗体 (以下 α -SMA), 抗 von Willebrand factor 抗体 (以下 vWF) を用いて免疫組織化学的に検討した。

【結果】1. 口蓋動脈は、実験期間を通して基本的構築を維持し断裂・閉塞はみられなかった。

2. 照射後1日では、内皮細胞はレーザー創、創辺縁ともに消失していた。平滑筋層は、レーザー創中心部では凝固壊死し、創辺縁では、細胞の空胞化がみられた。

3. 照射後3日では、内皮細胞は、創辺縁から既存の血管壁に沿って腔の裏層を開始していた。しかし、筋層では空胞化していた細胞において α -SMA の陽性反応が消失し壊死が生じていた。

4. 照射後5日では、内皮細胞による血管腔の裏