


学位論文内容の要旨

受付番号	第 361 号	氏 名	山崎 崇秀	
論文題名	Histological demonstration of bone healing in rat tibiae influenced by diode laser irradiation			
指導教員	菊井 徹哉			

論文内容の要旨(2,000字程度)

I 研究目的(300字程度)

近年歯科用レーザーの用途は急速に拡大している。歯科用レーザーの1つである半導体レーザーの波長は700-900nmであり、組織深達長は表層から2~3cm程度確保できる。この特性から、歯科において半導体レーザーは顎関節症疼痛の緩和、創傷治癒や細胞増殖の誘導を目的として用いられる。骨再生療法は歯周治療やインプラント治療に重要であり、成長因子やサイトカイン、足場を利用する方法が施行されている。一方、超音波や超短波を含めた物理的的刺激が骨代謝を促進させることは、Wolf'sの法則やFrost'sのメカノスタット理論により示唆されており、骨再生への応用は有効であると考えられる。これらの背景から、本研究はレーザー照射を物理的的刺激として捉え、半導体レーザーのLLLT照射が骨再生に応用できるかを検討するために、ラット脛骨骨欠損モデルを用いて骨修復過程の組織学的変化を調べた。

II 研究方法(500字程度)

本研究は奥羽大学動物実験委員会の承認を得て実験を行った。麻酔下で10週齢雄性SDラットの両脛骨に歯科用スチールバー(Φ1mm)を用いて骨欠損を作製した。実験期間中は固形飼料、飲料水を与え、常時24℃、12時間毎の自動照明下で飼育した。半導体レーザー(Lumix2)の照射条件は1日1回、40J(2.5分)、80J(5分)、120J(7.5分)と設定し、照射日程により2群に分けた。実験群1は骨欠損モデル作製後、上記の条件で経皮的に脛骨へ毎日照射を行い、3、7、14日間継続した。実験群2は骨欠損モデルに120Jの照射エネルギーで7日間照射した後、7、14日間照射を休止した。全く照射を行わない動物を対照群とした。採取した試料を10%中性緩衝ホルマリン溶液で冷温固定後、10%EDTAで4週間脱灰し、パラフィン包埋して薄切切片を作製後、H-E染色を行った。また、同じ実験を行った別の実験群に対しては試料採取7日前より3日おきにカルセイン溶液を10mg/Kg皮下投与し2重標識法を施行した。カルセイン標識された試料はレジン包埋後薄切切片とした。H-E染色と非脱灰切片での状態を顕微鏡デジタルカメラで画像として取り込み、画像解析ソフト(ImageJ)を用いて形態計測を行った。骨欠損部位の骨形成量についてBone Area/Tissue Area(%)を算出し、骨石灰化速度(MAR, $\mu\text{m}/\text{day}$)をカルセイン2重標識の幅で計測した。統計処理は独立2群の差の検定として、Mann-Whitney U-testにより有意差の検定を行った。

III 研究結果(600字程度)

実験群1：骨欠損モデル作製後3日目では、対照群及びレーザー照射群の骨形成は認められなかった。7日目では、レーザー照射群の骨形成は対照群と比べて多く、その形成量はレーザーの出力に依存して多くなり、120Jでのレーザー照射が最も骨形成量が多かった。一方、14日間の連続照射では逆に骨形成が抑制していた。各出力でレーザー照射された脛骨の骨形成量は、いずれも対照群と比較して少なかった。

実験群2：120Jで7日間レーザー照射を行い、その後照射休止状態でさらに7、14日間経過を追跡したところ、実験開始後14日目では対照群と比較してレーザー照射群の骨形成量は増加したが、21日目では両者の間に大きな差を認めなくなった。MARを計測したところ、7日間照射を行った群は対照群と比較してMARは増大しており、21日目になると実験群と対照群との間に差は認められなくなった。

IV 考察及び結論(600字程度)

骨再生療法は歯科診療に大きく寄与しているが、骨の治癒期間が診断や治療方針の決定を左右することがある。その治癒期間を短縮させることは、治療者と患者の両者に有益であり、本研究の結果は、骨再生におけるレーザー治療の効果を証明するものと考えられる。Wolff'sの法則が示すように、超音波や超短波、運動負荷を含めた物理的刺激は骨形成と骨吸収の制御に作用していることが示唆された。骨修復過程における骨形成に対してレーザーは出力依存性に有意義な影響を及ぼしていた。このLLLTの効果により、骨形成に関わるWntシグナルのインヒビターとして働くsclerostinの産生及び分泌を骨細胞が抑制したと考えられる。また、骨修復過程の細胞増殖期にある未分化間葉細胞から骨芽細胞へ分化及び増殖することで、骨形成が促進したと考えられた。Frost'sの理論より、7日間120Jでのレーザー照射が骨再生において適切な刺激であったと考えられる。以上のことより、半導体レーザー照射により骨の治癒過程において骨形成を誘導できることが示された。しかし、14日間連続でレーザー照射を行うと骨形成は抑制されたが、7日間の連続照射及び、7日連続照射後14日までは骨形成が増加していたことから、治癒期間を短縮させるためには、LLLT照射の適切な出力と期間を考慮しなければならない。