

論文内容要旨

実験的な歯の移動に対するレーザー照射の組織学的
および分子生物学的効果

応用生命科学部門 歯科矯正学

(主指導教員：谷本 幸太郎 教授)

基礎生命科学部門 学

(副指導教員：内田 隆 教授)

応用生命科学部門 歯科矯正学

(副指導教員：加来 真人 講師)

柄 優至

論文内容要旨

論文題目 実験的な歯の移動に対するレーザー照射の組織学的および分子生物学的効果

学位申請者 柄 優至

矯正歯科治療において治療が長期に及ぶことは患者が治療を懸念する理由の一つである。そこで矯正歯科分野ではこれまでに、歯の移動を加速するために様々な研究が行われてきた。近年、低出力レーザー照射によって歯の移動効率が亢進したとの報告があり、とりわけダイオードレーザー照射による歯の移動の加速については、いくつかの報告がなされている。しかしながら、他種レーザーについての報告はほとんどなく、組織透過性に着目した報告も見られないため、歯の移動に対するレーザー照射の影響については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、組織透過性の違う2つの歯科用レーザー、Er:YAGレーザーおよびNd:YAGレーザーの照射が、実験的な歯の移動にどのような影響を及ぼすのか、組織学的、分子生物学的に明らかにすることを目的とした。

実験動物として10週齢Wistar系雄性ラットを用い、両側上顎第一臼歯と上顎切歯をニッケルチタン製クローズドコイルスプリングで連結し、両側上顎第一臼歯を近心移動するモデルを作製した。レーザー照射側（左側）では、装置装着0, 1, 2, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24日後に同歯類側、近心側および口蓋側歯肉にレーザー照射を行い、Er:YAGレーザーは5 pps, 30 mjの出力で120秒、合計54 Jで照射（Er:YAGレーザー群）、Nd:YAGレーザーは10 pps, 20 mjの出力で90秒、合計54 Jで照射した（Nd:YAGレーザー群）。右側は装置装着のみを行い、レーザー照射は行わなかった（コントロール群）。装置装着後、腹腔内麻酔下においてマイクロX線CTを毎週撮影し、歯の移動距離を経時的に測定した。実験開始4週間後に屠殺し、Hematoxylin-eosin (H-E)染色、Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)染色、およびAlkaline phosphatase (ALP)、Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL)、Osteoprotegerin (OPG)それぞれの免疫組織化学的染色を行い、組織学的変化を観察した。また、レーザー照射による歯槽骨内部の温度変化をデジタルハンディ温度計を用いて測定した。

分子生物学的検討としては、レーザーの組織透過性を考慮して、表面吸収型のEr:YAGレーザー群ではヒト歯肉線維芽細胞を、組織透過型のNd:YAGレーザー群ではヒト骨芽細胞様細胞を用いた。それぞれの細胞を播種し、レーザー照射したレーザー照射群、矯正力を想定した遠心力を負荷した負荷群、レーザー照射と遠心力を負荷したレーザー負荷群、および装置装着のみのコントロール群に分類した。遠心力負荷は、細胞播種したプレートを10 g/cm² (475 rpm)で20分間遠心機にかけることにより行った。RT-PCR法により、Er:YAGレーザー群ではCyclooxygenase-2 (COX-2)、Interleukin-1 β (IL-1 β)、Tumor necrosis

別紙様式 2

factor- α (TNF- α)、Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)、Bone morphogenetic protein-4 (BMP-4)を、Nd:YAG レーザー群ではALP、RANKL、OPG の遺伝子発現を検討した。

その結果、以下の所見が明らかとなった。

1. 歯の移動距離

Er:YAG レーザー群では、装置装着 3 および 4 週間後においてコントロール群と比較して移動距離が有意に大きかった。また Nd:YAG レーザー群では装置装着 1 週間後に歯の移動距離が有意に大きく、実験期間を通して移動距離が大きい傾向を示した。

2. 組織学的観察

1) Er:YAG レーザー群ではコントロール群と比較して、近心根近心圧迫側において TRAP 陽性細胞が有意に多く認められた。

2) Er:YAG レーザー群ではコントロール群と比較して、近心根近心圧迫側において RANKL の発現が多く認められ、OPG の発現は少なかった。また Er:YAG レーザー群および Nd:YAG レーザー群では、近心根近心圧迫側および遠心圧迫側において、ALP の発現が多く認められた。

3. レーザー照射による歯槽骨内部の温度変化

Er:YAG レーザーおよび Nd:YAG レーザー照射により 1~5 度の歯槽骨内部組織の温度上昇が認められた。

4. ヒト歯肉線維芽細胞への Er:YAG レーザー照射および遠心力負荷による遺伝子発現の変化

1) Er:YAG レーザー群ではコントロール群と比較して、COX-2、IL-1 β 、TNF- α 、BMP-2、BMP-4 の遺伝子発現が有意に高い値を示した。

2) Er:YAG レーザー照射群では照射群およびコントロール群と比較して、COX-2、IL-1 β 、TNF- α 、BMP-2、BMP-4 の発現が有意に高い値を示した。

5. ヒト骨芽細胞様細胞への Nd:YAG レーザー照射および遠心力負荷による遺伝子発現の変化

1) Nd:YAG レーザー群ではコントロール群と比較して、RANKL/OPG 比および ALP の遺伝子発現が 1 および 24 時間後において有意に高い値を示した。

2) Nd:YAG レーザー照射群では照射群およびコントロール群と比較して、RANKL/OPG 比および ALP 遺伝子発現が有意に高い値を示した。

以上のことから、ラットの実験的な歯の移動において、Er:YAG レーザー照射は歯肉線維芽細胞における炎症性メディエーターの発現の上昇を介して破骨細胞を活性化し、歯の移動を加速させた可能性が示唆された。また、Nd:YAG レーザー照射は骨芽細胞の活性化による RANKL 発現の上昇および OPG 発現の減少を介して破骨細胞を活性化し、歯の移動を加速させた可能性が示唆された。またレーザー照射による軽度の温度上昇が、これら細胞活性化の要因である可能性が示唆された。