

平成 22 年 3 月 26 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19592197

研究課題名 (和文) レーザーを応用したう蝕治療法の確立-炎症歯髄創傷治癒過程の免疫組織化学的解析-

研究課題名 (英文) **A study of pulpal responses to laser irradiation**

研究代表者

吉羽 永子 (YOSHIBA NAGAKO)

新潟大学・医歯学総合病院・講師・

研究者番号：10323974

研究成果の概要 (和文)：

本研究の目的は、レーザーを応用したより快適でより生物学的なう蝕治療法の確立のための基礎的データをj得ることである。免疫組織学的、さらに遺伝子解析の方法を用いて、レーザー照射の象牙質・歯髄複合体への影響を調べた結果、半導体レーザー照射では、0.5W と 1.5W の出力の差で治癒機転が大きく異なり、一方 Er:YAG レーザーによる窩洞形成では、歯髄の損傷は軽度であり、従来の切削器具と同様な治癒過程を経ることが明らかとなった。

研究成果の概要 (英文)：

The purpose of the present study was to analyze the effects of laser irradiation on dental pulp tissue, by means of immunohistochemical stainings as well as reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The difference of output power of 0.5 and 1.5 W for 180 s of a pulsed GaAlAs laser (Lightsurge 3000, Osada, Japan) effected a change of pulpal responses. Er:YAG laser system applied for the carious removal and cavity preparation indicated no appreciable difference in comparison with a conventional drill.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2007年度 | 2,000,000 | 600,000 | 2,600,000 |
| 2008年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 2009年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：歯科保存学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：半導体レーザー、Er:YAG レーザー、象牙質・歯髄複合体

1. 研究開始当初の背景

う蝕の治療は保存治療系歯学の根幹に位置付けられている。ところが近年、う蝕に罹患した象牙質や歯髄の修復・再生機構が徐々に解明されるに従い、より生物学的アプローチ、すなわちMI(minimal intervention)コンセプトに基づく治療法が求められている。また、従来の回転切削器具を用いた治療に伴う騒音や振動は、患者にとって不快感が強く、さらに切削に伴う痛みへの恐怖感から、これに代わる切削法やう蝕除去法の検討が進められている。

近年、各種レーザーの歯科医療への応用が注目されており、歯科保存学領域においてもう蝕予防、初期う蝕診断、感染歯質除去・窩洞形成、根管拡大、知覚過敏処置、あるいは覆髄処置等に臨床応用されている。しかしながら、レーザー照射にたいする象牙質・歯髄複合体への影響は不明な点も多く、特にう蝕治療にレーザーを使用した場合、従来の回転切削器具と比べて有用性や治癒効果があるかどうかは検討されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、レーザーを応用したより快適でより生物学的なう蝕治療のための基礎データをj得ることであり、免疫組織学的、遺伝子解析の手法を用い、レーザー照射の象牙質・歯髄複合体への生物学的影響を明らかにすることである。これにより、積極的な歯髄組織の修復・再生を意図とした新たなう蝕治療の確立を目指そうとするものである。

3. 研究の方法

レーザー (Er:YAG レーザー、GaAlAs 半導体レーザー) 照射に対するラット臼歯歯髄の反応、特に象牙芽細胞、歯髄細胞および神

経線維の変化、免疫担当細胞の動態ならびに硬組織形成について従来の回転切削器具の場合と比較する。

4. 研究成果

(1) 半導体レーザー照射後の歯髄反応

出力0.5W, 60秒×3回照射では歯髄の損傷は軽度であり、2日後には象牙芽細胞様細胞の再配列が生じていた。

出力1.5W, 60秒×3回照射直後、象牙芽細胞を含む歯髄細胞の壊死が照射部を中心に観察され、象牙芽細胞におけるheat-shock protein 25 (Hsp-25)およびnestin陽性反応の消失が認められた。1日後から壊死層周囲にHsp-25強陽性反応が認められ、2~3日後になると細胞増殖を示すBrdU陽性細胞が多数観察され、修復機転の開始が示唆された。

RT-PCRにより歯及び骨関連因子の発現パターンを検索したところ、1週間の間に発現量の2つのピークを示す遺伝子群が確認された。

②Er:YAGレーザー照射後の歯髄反応

窩洞形成直後および6時間後、窩洞直下での象牙芽細胞の配列の乱れが、また12-24時間後にはHsp-25およびnestin陽性反応の消失がみられた。その後、2日目以降でHsp-25およびnestin陽性反応が同部の象牙芽細胞様細胞に観察されるようになった。BrdU陽性細胞は、2日および3日後に歯髄中に多数検出された。Er:YAGレーザーによる窩洞形成後の歯髄損傷は軽度であるものの、前駆細胞の増殖分化過程を経て、象牙芽細胞様細胞の配列が生じることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ①. Okiji T, Yoshihisa K: Reparative dentinogenesis induced by mineral trioxide aggregate: a review from the biological and physicochemical points of view. *Int J Dent*: in press, 2010
- ②. 吉羽邦彦, 鞍立桃子, 重谷佳見, 韓 臨麟, 吉羽永子, 興地隆史: Mineral trioxide aggregate (MTA)の物理化学的特性と直接覆髄後の歯髄反応;新潟歯学会雑誌,39(2), 2009.
- ③. Kuratate M, Yoshihisa K, Shigetani Y, Yoshihisa N, Ohshima H, Okiji T. Immunohistochemical analysis of nestin, osteopontin, and proliferating cells in the reparative process of exposed dental pulp capped with mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*. 34:970-974, 2008 (査読有)
- ④. Hosoya A, Ninomiya T, Hiraga T, Zhao C, Yoshihisa K, Yoshihisa N, Takahashi M, Okabe T, Wakitani S, Yamada H, Kasahara E, Ozawa H, Nakamura H. Alveolar bone regeneration of subcutaneously transplanted rat molar. *Bone*. 42:350-357, 2008 (査読有)
- ⑤. Yoshihisa N, Yoshihisa K, Hosoya A, Saito M, Yokoi T, Okiji T, Amizuka N, Ozawa H. Association of TIMP-2 with extracellular matrix exposed to mechanical stress and its co-distribution with periostin during mouse mandible development. *Cell and Tissue Research*. 330:133-145, 2007
- ⑥. Zhao C, Hosoya A, Kurita H, Hu T, Hiraga T, Ninomiya T, Yoshihisa K, Yoshihisa N, Takahashi M, Kurashina K, Ozawa H, Nakamura H. Immunohistochemical study of hard tissue formation in the rat pulp cavity after tooth replantation. *Archives of Oral Biology*. 52:945-953, 2007 (査読有)
- ⑦. Hosoya A, Nakamura H, Ninomiya T, Hoshi K, Yoshihisa K, Yoshihisa N, Takahashi M, Okabe T, Sahara N, Yamada H, Kasahara E, Ozawa H. Hard tissue formation in subcutaneously transplanted rat dental pulp. *Journal of Dental Research*. 86:469-474, 2007 (査読有)
- ⑧. Hosoya A, Nakamura H, Ninomiya T, Yoshihisa K, Yoshihisa N, Nakaya H, Wakitani S, Yamada H, Kasahara E, Ozawa H. Immunohistochemical localization of alpha-Smooth muscle actin during rat molar tooth development. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 54:1371-1378, 2006 (査読有)
- ⑨. Hosoya A, Nakamura H, Akahane S, Yoshihisa K, Yoshihisa N, Ninomiya T, Hoshi K, Sahara N, Kasahara E, Ozawa H. Immunohistochemical study of osteodentin in the unerupted rat incisor. *Journal of Oral Biosciences* 48:132-137, 2006 (査読有)
- ⑩. Yoshihisa N, Yoshihisa K, Stoetzel C, Perrin-Schmitt F, Cam Y, Ruch JV, Hosoya A, Ozawa H, Lesot H. Differential regulation of TIMP-1, -2, and -3 mRNA and protein expressions during mouse incisor development. *Cell and Tissue Research*. 324:97-104, 2006 (査読有)

[学会発表] (計 20 件)

- ①. Shigetani Y, Naoto Ohkura, Yoshihisa K, Yoshihisa N, Okiji T: Gene expression of Mineralized Tissue Matrix Proteins in GaAlAs Laser-irradiated Rat Molars. The 8th JEA-KAE joint scientific meeting, Busan Korea, March 26-29, 2010
- ②. Shigetani Y, Sasa N, Suzuki H, Yoshihisa K, Yoshihisa N, Okiji T: Early Pulpal Responses to GaAlAs Laser Irradiation in Rat Molars. The Asian Pacific Endodontic Confederation (APEC), the Korean Academy of Endodontics (KAE) and Japan Endodontic Association (JEA) are going to co-host the 15th APEC Scientific Congress, Tokyo, April 24-26, 2009.
- ③. Kuratate M, Yoshihisa K, Shigetani Y, Yoshihisa N, Okiji T: Immunolocalization of osteopontin and dentin matrix protein-1 during reparative dentinogenesis in rat molars after direct pulp capping with calcium hydroxide. The 11th Joint Meeting between Korean Academy of Conservative Dentistry and Japanese Society of Conservative Dentistry, Jeju, Korea, November 13, 2009, J Kor Acad Cons Dent, 34(6), 716.
- ④. Yamanaka Y, Shigetani Y, Yoshihisa K, Yoshihisa N, Okiji T: Evaluation of the biocompatibility of resin-based root canal sealers: An immunohistochemical study in the rat subcutaneous tissue. 11th Joint-Scientific Meeting between Japanese Society of Conservative Dentistry and Korean Academy of Conservative Dentistry, Jeju, Korea, November 12-14, 2009
- ⑤. 吉羽永子, 吉羽邦彦, 重谷佳見, 細矢明宏, 中村浩彰, 興地隆史: ヒト歯髄組織における Fibrillin-1 の局在に関する免疫組織化学的研究—石灰化および細胞分化との関連性について—日本歯科保存学会 2009 年度春季学術大会(第 130 回), 札幌, 2009 年 6 月 12 日, プログラムおよび講演抄録集: 62 頁, 2009.
- ⑥. 笹なつき, 重谷佳見, 吉羽邦彦, 吉羽永子, 監物新一, 大島勇人, 興地隆史: 半導体レーザー照射に対するラット臼歯歯髄初期反応. 第 51 回歯科基礎医学会学術大会, 新潟, 2009 年 9 月 10 日. Journal of Oral Biosciences 51(Supplement), 100 頁, 2009 年.
- ⑦. 吉羽永子, 吉羽邦彦, 重谷佳見, 興地隆史, 細矢明宏, 中村浩彰, 小澤英浩: ヒト歯髄組織における Fibrillin-1 の分解が細胞分化および石灰化に及ぼす影響. 第 51 回歯科基礎医学会学術大会, 新潟, 2009 年 9 月 11 日, Journal of Oral Biosciences 51 (Supplement): 140 頁, 2009.
- ⑧. 笹なつき, 重谷佳見, 鈴木啓展, 吉羽邦彦, 吉羽永子, 興地隆史: 半導体レーザー照射後のラット臼歯歯髄反応に関する免疫組織学的検討. 日本歯科保存学会 2009 年秋季学術大会(第 131 回), 仙台, 2009 年 10 月 29 日, プログラムおよび講演抄録集: 188 頁, 2008.
- ⑨. 吉羽邦彦, 吉羽永子, 鞍立桃子, 重谷佳見, 興地隆史: Mineral Trioxide Aggregate (MTA) を応用した象牙質再生療法—直接覆髄後の歯髄反応について

- 第 21 回日本歯科医学会総会, 2008 年 11 月 14-15 日, 横浜
- ⑩. 笹なつき, 重谷佳見, 鈴木啓展, 吉羽邦彦, 吉羽永子, 興地隆史:半導体レーザー照射後のラット臼歯歯髓初期反応に関する免疫組織学的検討. 日本歯科保存学会 2008 年度秋季学術大会(第 129 回), 2008 年 11 月 7 日, 富山
- ⑪. 重谷佳見, 鈴木啓展, 笹なつき, 吉羽邦彦, 山中裕介, 吉羽永子, 興地隆史: Er:YAG レーザーによる窩洞形成後のラット臼歯歯髓反応に関する免疫組織学的検討. 日本歯科保存学会 2008 年度秋季学術大会(第 129 回), 2008 年 11 月 7 日, 富山
- ⑫. 吉羽邦彦, 吉羽永子, 重谷佳見, 細矢明宏, 中村浩彰, 興地隆史: Mineral Trioxide Aggregate (MTA) に対するヒト歯髓反応に関する免疫組織化学的研究. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会, 2008 年 9 月 25 日, 東京
- ⑬. Yoshida K, Yoshida N, Shigetani Y, Hosoya A, Okiji T. Tissue Responses of Human Dental Pulps to Mineral Trioxide Aggregate. IADR 86th General Session & Exhibition, 2008 年 7 月 4 日, トロント (カナダ)
- ⑭. Kuratate M, Yoshida K, Shigetani Y, Yoshida N, Ohshima H, Okiji K. Reparative Dentinogenesis of Rat Molars Pulp-capped with Mineral Trioxide Aggregate. IADR 86th General Session & Exhibition, 2008 年 7 月 4 日, トロント (カナダ)
- ⑮. 細矢明宏, Zhao Chen, 吉羽邦彦, 吉羽永子, 山田博仁, 笠原悦男, 小澤英浩, 中村浩彰:再植歯の歯髓腔内における骨様組織形成. 日本歯科保存学会 2008 年度春季学術大会 (第 128 回), 2008 年 6 月 5 日, 新潟
- ⑯. 吉羽永子, 吉羽邦彦, 重谷佳見, 細矢明宏, 興地隆史: MTA に対するヒト歯髓反応に関する免疫組織化学的研究-直接覆髓後の細胞外基質の変化と細胞分化-. 日本歯科保存学会 2007 年度秋季学術大会 (第 127 回), 2007 年 11 月 8 日, 岡山
- ⑰. Yoshida N, Yoshida K, Hosoya A, Saito M, Yokoi T, Okiji T, Amizuka N, Ozawa H. Association of TIMP-2 with extracellular matrix exposed to mechanical stress and its co-distribution with periostin during mouse tooth development. 9th International Conference on Tooth Morphogenesis and Differentiation, 2007 年 9 月 6 日, チューリッヒ (スイス)
- ⑱. 鞍立桃子, 吉羽邦彦, 重谷佳見, 吉羽永子, 大島勇人, 興地隆史: MTA によるラット臼歯覆髓モデルにおける歯髓反応. 第 49 回歯科基礎医学会学術大会, 2007 年 8 月 30 日, 札幌
- ⑲. 吉羽邦彦, 吉羽永子, 重谷佳見, 細矢明宏, 興地隆史: Mineral Trioxide Aggregate (MTA) に対するヒト歯髓の反応-直接覆髓後の硬組織形成過程の免疫組織化学的研究-. 日本歯科保存学会 2007 年春季学術大会 (第 126 回), 2007 年 6 月 8 日, 大宮
- ⑳. 鞍立桃子, 吉羽邦彦, 重谷佳見, 吉羽永子, 興地隆史: Mineral Trioxide Aggregate (MTA) に対するラット臼歯歯髓の反応に関する免疫組織化学的研究. 第 28 回日本歯内療法学会学術大会, 2007 年 5 月 26 日, 広島

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉羽 永子 (YOSHIBA NAGAKO)
新潟大学・医歯学総合病院・講師
研究者番号：10323974

(2) 研究分担者

吉羽 邦彦 (YOSHIBA KUNIHICO)
新潟大学・医歯学系・准教授
研究者番号：30220718

竹中 彰治 (TAKENAKA SHOHJI)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号：50313549