

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25862016

研究課題名(和文)レーザーによる歯の移動時の歯周組織誘導能の探索と臨床応用

研究課題名(英文)Effects of laser irradiation on the metabolism of periodontal tissue and application of laser irradiation for orthodontic treatment

研究代表者

國松 亮(Kunimatsu, Ryo)

広島大学・医歯薬保健学研究院(歯)・助教

研究者番号：40580915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：低出力レーザー照射は、ヒト由来歯周組織構成細胞および歯髄細胞の増殖能を亢進し、その細胞内経路としてATPの産生が証明された。また、骨分化誘導を開始したヒトセメント芽細胞において、低出力レーザー照射は骨分化マーカーの遺伝子発現および石灰化度を亢進することが明らかとなった。さらに、in vivo 系実験の検討により、低出力レーザー照射により人為的な歯の移動が促進された。以上より、低出力レーザー照射は、歯周組織構成細胞の増殖能および石灰化能を亢進させることで、歯周組織の再生へ誘導することが示唆され、人為的な歯の移動を促進することが示された。

研究成果の概要(英文)：It is demonstrated that a low-level laser irradiation enhances the proliferation of human periodontal lineage cells and dental pulp cells by up-regulated ATP. In addition, diode laser irradiation up-regulated the expressions of bone specific marker and mineralization activity in the osteogenic differentiation of human periodontal lineage cells and dental pulp cells. In vivo studies, it is demonstrated that irradiation of a low-level laser. It is thus confirmed that accelerated orthodontic tooth movement significantly. Laser irradiation may contribute to the regeneration of periodontal lineage tissues in terms of the enhancement of human cementoblast lineage cells proliferation and differentiation, suggesting that the application of a low-level laser could accelerate orthodontic movement.

研究分野：小児・矯正

キーワード：再生医学 シグナル伝達 レーザー 代謝活性

1. 研究開始当初の背景

レーザーは励起状態にある物質の誘導放射により発生された特定の電磁波であり、その波長により様々な特徴を有するため、近年、医療分野に広く応用されており有効性が報告されてきた。現在、医療分野においては、主に半導体、Nd-YAG、Er-YAG、CO₂ レーザーが使用されており、皮膚組織や骨折の治癒促進等に応用されているが、その波長や出力により、組織に及ぼす影響が異なる。また、その作用機序には不明な点が多く、未だ科学的根拠に基づいた治療として確立されていない。そして、歯周組織の代謝や歯の移動に対するレーザー照射の影響について詳細な検証や最適な条件の検討を行った報告は見られない。近年、半導体レーザーの低出力照射は骨芽細胞の基質産生能が亢進することや低出力半導体レーザー照射は歯の移動を促進させる可能性が示唆されている。

以上の背景より、レーザーを併用することで、人為的な歯の移動をより促進させる可能性があるものと考えられる。さらに、レーザーの歯周組織への適用により、歯槽骨に加えてセメント質も含めた歯周組織全体の誘導効果が期待されることから、レーザーを併用した新たな治療法の確立を目指す本研究を着想するに至った。

2. 研究の目的

本研究では、医療用機器として用いられている半導体レーザー等に着目し、歯周組織構成細胞の代謝に及ぼす影響について検討する。そして、歯の移動時の歯周組織代謝に対するレーザーの効果を検証し、レーザーを併用することにより矯正歯科治療の効率化が達成されるか否かを明らかにすることを目的とした。そのため、研究期間内において、以下の項目を検討した。

実験1では、歯周組織構成細胞を用いた *in vitro* 実験系により、増殖能および基質産生能に対する半導体レーザーの影響について検討を行った。

実験2では、半導体レーザーのシグナル伝達機構の解明を行った。

実験3では、動物実験による検討を行った。ラットを用いて、レーザーを併用した実験的な歯の移動を行い、レーザーによる歯の移動への影響を検討した。

3. 研究の方法

実験1では、歯周組織構成細胞(ヒト培養セメント芽細胞、ヒト培養歯根膜細胞、ヒト培養骨芽細胞およびヒト培養歯髄細胞)を用いた *in vitro* 実験系により、増殖能および基質産生能に対する半導体レーザーの影響について検討を行った。

細胞増殖能に対するレーザー照射の影響
各培養細胞にレーザー照射を行った際の増殖能への影響について、ELISA BrdU assay (Roche Diagnostics) および MTS assay を用いて解析した。また、レーザー照射による各細胞増殖時の動態変化を生細胞イメージングシステム Incucyte™ ZOOM (ESSEN bioscience) を用いてリアルタイムに解析した。

基質代謝能に対するレーザー照射の影響
各細胞の基質代謝能の検討では、レーザー照射を行った際の骨代謝マーカー(アルカリフォスファターゼ、I型コラーゲン、bone sialoprotein (BSP) など)の発現レベルについて定量PCR解析および定量Western blot解析を行った。また、アルカリフォスファターゼ活性および培養液中のCaレベルを定量評価し、アリザリンレッド染色法を用いて石灰化度の検討を行った。

実験2では、半導体レーザーのシグナル伝達機構の解明を行った。近年、レーザー照射は、細胞内のミトコンドリアのシトクロム酸化酵素にエネルギーが伝達されることでATPの産生が亢進することが示唆されている。そこで、本研究は、各細胞にレーザー照射を行い、ATP determination Kit (Invitrogen) を用いてATP産生の変化を検討した。

実験3では、動物実験による検討を行った。ラットを用いて人為的な歯の移動を行い、レーザー照射による歯の移動への影響をマイクロCT SkyScan1176-HT (東陽テクニカ)を用いて、三次元的に解析を行った。

4. 研究成果

1. レーザー照射は歯周組織構成細胞の増殖能を亢進させることが明らかとなった。
2. 基質形成期において、レーザー照射は歯

周組織構成細胞の石灰化能を亢進することが明らかとなった。

3. レーザー照射により、歯周組織構成細胞のATP産生を亢進されることが明らかとなった。

4. *In vivo* 系実験において、レーザー照射はラット歯の移動を促進されることが μ CTによる解析で示された。

以上の結果より、レーザー照射は、ヒト培養歯周組織構成細胞の細胞増殖能および石灰化能に対して大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。また、その作用機序として、ATPの活性化が示された。さらに、レーザー照射により、歯周組織および歯牙移動の代謝活性効果を有することが明らかとなり、レーザーの併用による矯正歯科治療の効率化が達成される可能性が示唆された。

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1件)

ヒト歯髄細胞の代謝に対する低出力半導体レーザー照射の影響: 國松 亮, 柄 優至, 郡司 秀美, 吉見 友希, 中島 健吾, 谷本幸太郎. 日本レーザー歯学会雑誌. 26 巻(1) 1-10, 2015. (査読有)

[学会発表](計12件)

1. 低出力半導体レーザー照射がヒト歯根膜細胞の細胞増殖能に及ぼす影響. 郡司 秀美, 國松 亮, 吉見 友希, 柄 優至, 中島 健吾, 谷本 幸太郎. 第 27 回日本レーザー歯学会総会・学術大会(札幌), 6/5-6/6, 2015.
2. 低出力 Nd:YAG laser 照射が骨芽細胞の増殖に及ぼす影響. 柄 優至, 國松 亮, 吉見 友希, 郡司 秀美, 中島 健吾, 谷本 幸太郎. 第 27 回日本レーザー歯学会総会・学術大会(東京), 6/5-6/6, 2015.
3. High-frequency low-level diode laser irradiation enhances the proliferation of cementoblast lineage cells. Hidemi Gunji, Ryo Kunimatsu, Yuji Tsuka, Tetsuya Awada, Yuki Okamoto, Kotaro Tanimoto. American association of orthodontists meeting (SanFrancisco, CA, USA), 5/15-5/19, 2015.

4. 低出力 Nd:YAG 照射が、矯正学的歯牙移動の代謝に及ぼす影響. 柄 優至, 國松 亮, 藤井 絵理, 郡司 秀美, 谷本 幸太郎. 第 26 回日本レーザー歯学会総会・学術大会 (東京), 12/6-12/7, 2014.
5. ヒト歯髄細胞の代謝に対する低出力半導体レーザー照射の影響. 國松 亮, 柄 優至, 郡司 秀美, 谷本 幸太郎. 第 26 回日本レーザー歯学会総会・学術大会 (東京), 12/6-12/7, 2014.
6. Effect of Nd:YAG laser irradiation in cultured osteoblasts. Tsuka Yuji, Kunimatsu Ryo, Fujii Eri, Gunji Hidemi, Tanimoto Kotaro. The 47th Annual Scientific Congress of Korean Association of Orthodontists (Seoul), 10/30-11/1, 2014.
7. ヒト歯髄細胞の代謝に対する低出力半導体レーザー照射の影響. 郡司 秀美, 國松 亮, 麻川 由起, 廣瀬 尚人, 光吉 智美, 吉見 有希, 柄 優至, 谷本幸太郎. 第 73 回日本矯正歯科学会大会(幕張), 10/20-10/22, 2014.
8. 低出力 Er: YAG 照射が、矯正学的歯牙移動の代謝に及ぼす影響. 柄 優至, 藤田 正, 白倉 麻耶, 國松 亮, 藤井 絵理, 郡司 秀美, 谷本 幸太郎. 第 73 回日本矯正歯科学会大会(幕張), 10/20-10/22, 2014.
9. Er:YAG レーザー照射が実験的歯の移動に及ぼす影響について. 柄 優至, 國松 亮, 藤井 絵理, 郡司 秀美, 谷本 幸太郎. 第 53 回広島県歯科医学会(広島), 9/6-9/7, 2014.
10. Effects of Nd: YAG laser irradiation on molecular biological and histological at tooth movement - a pilot study. Tsuka Yuji, Kunimatsu Ryo, Fujii Eri, Gunji Hidemi, Tanimoto Kotaro. 9th APOC and 20th MAOISCT (Kuching,

Malaysia), 10/17-10/20, 2014.

11. Effects of low-level laser irradiation on human dental pulp cell metabolism.
Kunimatsu Ryo, The 5 Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry (Hiroshima), 10/12, 2013.
12. Effects of Near-Infrared Laser on Adult Human Dental Pulp Cells, Le Thuan, Kunimatsu Ryo, Zhang Yan, Denbesten Pamela IADR/AADR/CADR General Session and Exhibition (Seattle, WA USA), 4/20-4/23, 2013.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://home.hiroshima-u.ac.jp/orthod/reruit/report/2013.html>

http://www.hiroshima-u.ac.jp/top/kenkyu/gakkaisyo/p_9babs9.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

國松 亮 (KUNIMATSU RYO)
広島大学大学院医歯薬学総合研究院
(歯)・助教
研究者番号：40580915

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：