

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17257

研究課題名(和文) コールドレーザーを応用した歯の移動時の歯周組織代謝活性化と臨床応用

研究課題名(英文) Periodontal metabolic activation during tooth movement using cold laser and clinical application

研究代表者

郡司 秀美 (Gunji, Hidemi)

広島大学・医系科学研究科(歯)・研究員

研究者番号：80806688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：細胞実験では、マウス頭蓋冠由来骨芽細胞用細胞(MC3T3-E1)に対してコールドレーザーを照射した結果、細胞増殖能および基質代謝能が亢進することが明らかとなった。また、コールドレーザーが細胞内伝達物質に与える影響について検討したところ、MAPK/MEKシグナル伝達経路に影響を及ぼすことが示唆された。

動物実験では、ラットの実験的歯の移動モデルを作製し、レーザー照射を行った際の歯の移動距離の比較を行った結果、レーザー照射時において歯の移動が亢進されることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、コールドレーザーの被照射組織に対する生体活性作用(バイオスティミレーション効果)と、その高い安全性に着目した。コールドレーザーは従来の低出力半導体レーザーと比較して高い光エネルギーを持ちながら、超短パルスレーザーであるため、照射時の組織の熱損傷を伴わないという特徴がある。そのため、照射時にはより安全にレーザー光を深部組織に到達させることが可能となる。本研究結果から、矯正歯科治療時においてコールドレーザー照射を行うことにより、歯の移動を効率化することができる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In vitro, it was revealed that the cell proliferation ability and the substrate metabolism ability were enhanced as a result of irradiating the mouse calvaria-derived osteoblast cell (MC3T3-E1) with a cold laser. In addition, when the effect of cold laser on intracellular messenger was examined, it was suggested that it affects MAPK/MEK signaling pathway. In vivo, an experimental rat tooth movement model was created to compare the tooth movement distance during laser irradiation. As a result, it was suggested that tooth movement during laser irradiation was enhanced.

研究分野：歯科

キーワード：レーザー 歯の移動

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療は、良好な顎顔面と正常な口腔機能の獲得を目的とする医療である。しかしながら、矯正歯科治療経験者は、7-18%に止まる(渡辺ら, 2009)。矯正歯科治療の懸念点の一つとして、治療期間が長期に及ぶことが挙げられる。矯正歯科治療中の歯の移動は、骨リモデリングにより可能となるが、不正咬合の種類や歯根形態などの局所的要因や、年齢や骨代謝疾患などの全身的要因の影響を受ける。もし、矯正歯科治療中に特定の歯の移動のみを選択的に促進させることができれば、より効率的な矯正歯科治療を行うことが可能となる。以前より、歯の移動促進の対応策の一つとして、外科手術を併用した矯正歯科治療(コルチコトミー)の有効性が示唆されてきた。コルチコトミーは、歯槽骨表層の皮質骨に切開を加える術式であり、歯の移動効率を約30-50%亢進することが示唆されているが、生体内でどのような機序で代謝が促進されているのかは立証されておらず、科学的根拠に基づいた治療(Evidence-Based-Medicine; EBM)には至っていない。さらに、コルチコトミーには歯槽骨量を増加させる効果は認められない。成人症例においては、歯周疾患や加齢により歯槽骨レベルが減少していることに加え、健康な歯周組織であっても歯の移動に伴う歯槽骨の十分な支持が得られず、鼓形空隙の増加(ブラックトライアングル)が生じる場合もあり、コルチコトミー単独の術式ではこれらをすべて防止することは困難である。一方、レーザーは励起状態にある物質の誘導放射により発生する特定の電磁波であり、その波長に応じた様々な特徴を有する。以前より、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。Nd-YAGおよび半導体レーザーは生体親和性が高く、優れた組織浸透性を有するため、皮膚損傷や骨折の治癒促進等に应用されている。レーザーによるバイオスティミレーション効果は、光化学作用と光熱作用が関与する。光化学作用は、ミトコンドリア内のCOXを活性化し、ATPの産生を亢進させることが報告されている。レーザー照射による適度な熱上昇は細胞活性を高めるが、過度な熱が生じると組織表面が破壊される。一般的にレーザー装置は、連続波あるいはパルス波(レーザー照射と休止を繰り返す変調)を発生させる。パルス幅が広いほど副作用として熱の発生が多くなるため、生体内に照射する際には、低出力にするかパルス幅を狭くする必要がある。近年、超短パルス(0.001秒以下)を発振できるスーパーパルス半導体レーザー(コールドレーザー)が開発され、組織内に熱損傷を及ぼすことなく、高い光エネルギーをより効率的に組織内へ浸透させることが可能となり、医科領域において、平成27年に保険適用されている。歯科においても、コールドレーザーを応用した光線力学療法(PDT)による歯周病治療法が注目されている。しかしながら、顎顔面領域におけるコールドレーザーの効果や作用機序は解明されていない。さらに、コールドレーザーを歯の移動に応用した報告は認められない。

2. 研究の目的

本研究では、スーパーパルス半導体レーザーの光化学作用に着目し、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、スーパーパルス半導体レーザーを併用することにより矯正歯科治療時の歯の移動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。

3. 研究の方法

実験1 コールドレーザー照射が歯周組織細胞の増殖・基質産生能に及ぼす影響

本研究ではコールドレーザー(Lumix 2, USA Laser Biotech Inc)を使用した。また、細胞にはマウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞株(MC3T3-E1)を用いて検討を行った。レーザー照射についてはEjiriらの方法(Lasers Med Sci., 2014)に準拠した。

歯周組織構成細胞における細胞増殖能への影響

培養細胞に対し、のレーザー照射を行った際の細胞増殖への影響について、ELISA BrdU assayにて検討を行った。

歯周組織培養細胞における基質代謝能への影響

細胞に対し、レーザー照射を行った際の骨代謝マーカーおよび骨吸収マーカーの発現レベルについて現有の定量PCR Lyght Cyler® 480(Roche Diagnostics)を用いた遺伝子解析およびOdyssey®(LI-COR Bioscience)とWestern blot プロセッシング装置(BenchPro® 4100, Invitrogen)およびWestern blot ゲル転写装置(iBlot® 2Gel Transfer Device)を用いた定量Western blot 解析を行った。

実験2 コールドレーザーの歯周組織構成細胞におけるシグナル伝達経路の検討

レーザー照射が細胞内伝達物質に及ぼす変化について検討を行った。MARK/MEK シグナル伝達経路の中間経路として知られるMAPK/ERK 1/2、p38 MAPKおよびSAPK/JNKのリン酸化について定量Western blot 解析を行った。

実験3 動物実験による検討

ラットの上顎門歯と第一臼歯間にクローズドコイルを装着し、門歯を固定源として第一臼歯を近心に移動させるモデルを作製した。なお、半導体レーザーは非常に透過性が強いので、レーザー照射群と非照射群は別個体を使用した。また、ラットを灌流固定し、摘出・脱灰した後、現有の全自動包埋装置およびパラフィン包埋装置にて包埋し、組織切片を作製した。HE染色を行うとともに、骨代謝関連マーカーの免疫組織化学染色を用いて評価した。

4．研究成果

MC3T3-E1 に対してコールドレーザーを照射した結果、細胞増殖能および基質代謝能が亢進することが明らかとなった。また、MAPK/ERK 1/2、p38 MAPK および SAPK/JNK のリン酸化が亢進された。

ラットの実験的歯の移動時において、レーザー照射により歯の移動が亢進された。また、免疫染色により、骨代謝関連マーカーの発現が亢進された。

本研究結果より、コールドレーザー照射により、矯正歯科治療時における歯の移動が亢進される可能性が示唆された。このことより、コールドレーザー照射は、治療期間を短縮する新規の矯正歯科治療法として利用できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tsuka Y, Kunimatsu R, Gunji H, Nakajima K, Hiraki T, Nakatani A, Tanimoto K	4. 巻 61
2. 論文標題 Molecular biological and histological effects of Er:YAG laser irradiation on tooth movement.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Oral Sci.	6. 最初と最後の頁 67-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2334/josnusd.17-0472.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuka Y, Kunimatsu R, Gunji H, Nakajima K, Kimura A, Hiraki T, Nakatani A, Tanimoto K, Tanimoto.	4. 巻 34
2. 論文標題 Effects of Nd:YAG low level laser irradiation on cultured human osteoblasts migration and ATP production: in vitro study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Lasers Med Sci	6. 最初と最後の頁 55-60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10103-018-2586-6	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tsuka Y., Kunimatsu R., Gunji H., Abe T., Cynthia Concepción Medina, Nakajima K., Hiraki T., Nakatani A., Tanimoto K
2. 発表標題 Effect of Er:YAG laser irradiation and mechanical force on primary human gingival fibroblasts.
3. 学会等名 The 52 th Annual Scientific Congress of the Korean Association of Orthodontists (Souel) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 國松亮, 郡司秀美, 柄 優至, 吉見友希, 栗田哲也, 中島健吾, 坂田修三, 中谷綾香, 平木智香, 阿部崇晴, 谷本幸太郎
2. 発表標題 超短パルス近赤外線半導体レーザー照射がマウス頭蓋冠由来芽細胞の細胞増殖および細胞修復能に及ぼす影響
3. 学会等名 第78回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----