

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2020

課題番号：18H06304・19K21392

研究課題名(和文) 糖尿病状態における骨代謝に低出力レーザー治療(LLLT)が与える効果

研究課題名(英文) The effect of low-level laser therapy (LLLT) on bone metabolism in diabetic condition

研究代表者

三上 理沙子 (Mikami, Risako)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・特任助教

研究者番号：30822548

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はlow-level laser therapy (LLLT)を糖尿病患者における歯科治療に応用することである。そのためにまず本研究では、糖尿病が口腔内に与える影響をin vitroおよびin vivoで検討した。歯周組織の細胞を用いた研究より、高血糖状態は細胞増殖や分化などに抑制的に働くことが示された。糖尿病モデル動物を用いた実験からは、糖尿病は口腔粘膜の創傷治癒を遅延させ、インプラントのオッセオインテグレーションを阻害することが示された。また、LLLTの歯周治療への効果について、システマティックレビューおよびメタ分析を行い、LLLTは歯周治療に伴う疼痛を抑制することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、糖尿病による高血糖状態により誘導された酸化ストレスがインプラント治療時の歯槽骨への結合を阻害する可能性が示唆された。このことは糖尿病患者におけるインプラント治療の予後の改善策の開発へつながる可能性がある。その改善策の一つとして、今後LLLTの可能性を検討していく予定である。また、過去の研究のシステマティックレビューを行い、歯周外科治療の際にLLLTを併用することで疼痛を軽減させることが示された。このことはLLLTが歯周外科治療における患者のストレス軽減に大きく寄与することを示唆する内容であり、さらなる臨床応用の広がりが待たれる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to apply low-level laser therapy (LLLT) to dental treatment in patients with diabetes. In this study, we performed in vitro and in vivo experiments to show the effects of diabetes on periodontal tissue was investigated. Experiments using periodontal tissue cells have shown that hyperglycemic conditions significantly suppressed cell proliferation and differentiation. In vivo study have revealed that diabetes delayed wound healing of oral mucosa and inhibits osseointegration of dental implant. In addition, a systematic review and meta-analysis was performed to investigate the effects of LLLT on periodontal treatment, which showed that LLLT suppressed the pain associated with periodontal therapy.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周病 糖尿病 レーザー low-level laser therapy

1. 研究開始当初の背景

歯周病は、中・高齢者において特に罹患率の高い感染性疾患であり、歯肉の炎症、歯槽骨など歯周支持組織の破壊を特徴とし、歯の喪失にも至る慢性炎症性疾患である。近年では、糖尿病と歯周病は相互に影響することが知られている。抜歯、インプラント治療や歯周外科治療などの外科的な侵襲に対して、糖尿病患者では創傷治癒が遅延しやすいことや骨形成が低下していることなどが知られている。そのため、これらの治療をより効果的かつ安全に行うためには、歯槽骨や創傷の治癒を促進するような術式の工夫が必要であると考えられる。

そこで我々は低出力レーザー照射(**Low level laser therapy: LLLT**)による組織の賦活化に着目した。**LLLT**とは生体に低出力でレーザー光線を照射する非常に低侵襲な治療法で、疼痛緩和、消炎、創傷治癒促進、血流改善などの効果があることが知られている。これまで我々のグループでは、**LLLT**が細胞の細胞増殖の促進、骨芽細胞分化の促進することや、ラット抜歯モデルにおいて**LLLT**が抜歯窩の治癒を促進させることを示してきた。

これらの知見から、糖尿病患者の歯科治療に**LLLT**を応用することで治療成績の改善に寄与できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

前述の背景とこれまでの研究成果をもとに、本研究計画では、**LLLT**の糖尿病状態における創傷治癒促進効果を検証するための **in vivo** および **in vitro** モデルの確立、および **LLLT**の歯周治療への有効性の客観的な評価を行うことを目的とし、以下の事項を検討した。

(1) 糖尿病モデルラットにおけるインプラント埋入後の歯周組織の治癒遅延についての分析

糖尿病が歯周組織の治癒過程に与える影響を分析するために、糖尿病モデル動物の口腔内にインプラント埋入を行い、該当部の組織を組織切片にて形態学的に観察する。また治癒過程にある組織の **mRNA** から炎症性マーカー、骨代謝マーカーなどの発現レベルを計測し、高血糖状態による歯周組織治癒への影響を分析した。

(2) 高血糖状態における創傷治癒遅延に酸化ストレスが与える影響についての分析

糖尿病状態が創傷治癒を遅延させるメカニズムとして酸化ストレスによる影響が報告されている。口腔内のインプラント周囲においても同様の病態を示すのか調べるために、糖尿病モデルラットに埋入したインプラント周囲組織の酸化ストレスレベルの計測を行う。また、**in vitro**にて、高血糖状態が歯周組織細胞の増殖能や分化能に与える影響を検討し、さらに活性酸素種(**Reactive Oxygen Species: ROS**)の阻害剤を用いて、その改善効果を検討した。

(3) **LLLT**が歯周治療に与える効果についての解析

これまで **LLLT**は歯周治療に伴う痛みの抑制に有効であることが報告されてきているが、それらを客観的に評価したシステマティックレビューは存在しない。そこで、我々は2次研究として、**LLLT**による歯周治療時の疼痛制御効果についてシステマティックレビューおよびメタ分析を行った。

3. 研究の方法

(1) 糖尿病モデルラットにおけるインプラント埋入後の歯周組織の治癒遅延についての分析

6週齢雄 **Slc:Wister** ラットにストレプトゾトシン(**STZ**)の腹腔内注射を行い糖尿病群とし、生理食塩水を投与した群をコントロール群とした。血清中の血糖値を測定し、耐糖能を評価した。両側上顎第一大臼歯を抜歯し、インプラントを埋入した。埋入から3日後にインプラント周囲組織を採取し、**Tumor necrosis factor- α (Tnf- α)**などの炎症性マーカーや、**Alkaline phosphatase (Alp)**などの骨形成マーカー、**Superoxide dismutase 1 (Sod1)**などの酸化ストレスマーカーの **mRNA**を **PCR**法で定量した。また埋入から28日後にインプラント体を含めた周囲組織を採取し組織切片を作成した。

(2) 高血糖状態における創傷治癒遅延に酸化ストレスが与える影響についての分析

ラット骨髄から採取した間葉系幹細胞(**Bone marrow derived mesenchymal stem cells; BMMSC**)を用いて、高血糖状態が **BMMSC**の増殖および骨分化能に与える影響を検討した。高血糖条件下で培養した群を高血糖培地群、通常条件下で培養した群をコントロール群とし、細胞増殖能、**ALP**活性の測定、細胞外基質の石灰化物の染色を行った。また、**ROS**の阻害剤である **N-acetyl-L-cysteine (NAC)**の添加により、酸化ストレスによる影響を検討した。

(3) **LLLT**が歯周治療に与える効果についての解析

PubMedなどのデータベースを用い、歯周治療に **LLLT**を応用し、その疼痛制御効果を評価しているランダム化比較試験を系統的かつ網羅的に収集した。バイアスリスクは **Cochrane risk of bias tool**を基に判定した。採用された論文のうち、合成可能であった2論文を用いて、半導

体レーザーによる **LLLT** の歯周外科後の疼痛制御効果についてメタ分析を行った。

4．研究成果

糖尿病モデルラットを用いた実験より、糖尿病群ではインプラント埋入手術後の軟組織の治癒経過が不良であり、組織切片からインプラントと骨の接触面積(**Bone-implant contact; BIC**)が有意に低く、**osseointegration** が阻害されたことが示された。また、糖尿病群のインプラント周囲組織では骨分化マーカーや抗酸化ストレスマーカーの **mRNA** 発現が有意に低下していることが明らかになった。**In vitro** 実験により、高血糖培地群では **BMMSC** の細胞増殖や細胞外基質の石灰化が有意に低下し、**ROS** の阻害剤である **NAC** の添加によりそれらが改善することが示された。これらのことから、糖尿病状態において、高血糖が誘導する酸化ストレスが細胞増殖や骨細胞分化を抑制し、インプラントの **osseointegration** を阻害する可能性が示唆された。前述の成果より、**in vitro** および **in vivo** における、高血糖状態による創傷治癒遅延モデルを確立できたと考えており、今後この系に **LLLT** を組み合わせることで **LLLT** の効果を検討していく予定である。

また、歯周治療に伴う疼痛に対する **LLLT** の制御効果をシステマティックレビューしたところ、半導体レーザーを用いた **LLLT** には歯周外科治療に伴う疼痛を制御する効果があることが示唆され、メタ分析の結果、歯周外科治療後 2 日目から 7 日目にかけて **LLLT** による有意な疼痛抑制効果が認められた

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mikami Risako, Mizutani Koji, Aoki Akira, Noda Masahiro, Ejiri Kenichiro, Izumi Yuichi	4. 巻 40
2. 論文標題 Promotion of Tissue Healing and Regeneration with Low-Reactive Level Laser Therapy Using Diode Lasers in Dental Field: Review of Basic and Clinical Research	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nippon Laser Igakkaishi	6. 最初と最後の頁 15 ~ 29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2530/jsism.jsism-40_0012	査読の有無 有
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 水谷 幸嗣、三上 理沙子、松浦 孝典、和泉 雄一、岩田 隆紀、青木 章	4. 巻 63
2. 論文標題 低侵襲の歯周外科治療にEr : YAGレーザーを応用した症例の長期経過	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本歯科保存学雑誌	6. 最初と最後の頁 96 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11471/shikahozon.63.96	査読の有無 有
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 Takeda Kohei, Mizutani Koji, Matsuura Takanori, Kido Daisuke, Mikami Risako, Noda Masahiro, Buranasin Prima, Sasaki Yoshiyuki, Izumi Yuichi	4. 巻 13
2. 論文標題 Periodontal regenerative effect of enamel matrix derivative in diabetes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0207201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0207201	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 水谷 幸嗣、三上 理沙子、佐々木 好幸、高谷 典秀、太田 秀二郎、松浦 孝典、城戸 大輔、武田 浩平、向山 雄人、須田 智也、和泉 雄一、岩田 隆紀	4. 巻 63
2. 論文標題 人間ドック受診者に対する歯周病スクリーニング方法の検討 単一施設横断研究	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本歯科保存学雑誌	6. 最初と最後の頁 245, 253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11471/shikahozon.63.245	査読の有無 有
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 Mikami R, Mizutani K, Gohda T, Gotoh H, Matsuyama Y, Aoyama N, Matsuura T, Kido D, Takeda K, Izumi Y, Fujiwara T, Iwata T	4. 巻 25
2. 論文標題 Association between circulating tumor necrosis factor receptors and oral bacterium in patients receiving hemodialysis: a cross-sectional study.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical and experimental nephrology	6. 最初と最後の頁 58,65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-020-01952-2	査読の有無 有
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 Mizutani K, Mikami R, Gohda T, Gotoh H, Aoyama N, Matsuura T, Kido D, Takeda K, Izumi Y, Sasaki Y, Iwata T	4. 巻 10
2. 論文標題 Poor oral hygiene and dental caries predict high mortality rate in hemodialysis: a 3-year cohort study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 21872
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-78724-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mikami R, Mizutani K, Nagai S, Pavlic V, Iwata T, Aoki A	4. 巻 online ahead
2. 論文標題 A novel minimally-invasive approach for metal tattoo removal with Er:YAG laser.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of esthetic and restorative dentistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jerd.12721	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Risako Mikami, Koji Mizutani, Tomohito Gohda, Norio Aoyama, Takanori Matsuura, Daisuke Kido, Hiromichi Gotoh, Yuichi Izumi, Yoshiyuki Sasaki, and Takanori Iwata
2. 発表標題 The impact of diabetes on periodontal parameters in Japanese hemodialysis patients: A cross-sectional study
3. 学会等名 105th Annual Meeting of the American Academy of Periodontology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青木 章, 竹内 康雄, 秋月 達也, 水谷 幸嗣, 片桐 さやか, 池田 裕一, 前川 祥吾, 渡辺 数基, 松浦 孝典, 大津 杏理, 柿崎 翔, 駒崎 利奈, 三上 理沙子, 秀島 雅之, 二階堂 徹, 荒木 孝二, 和泉 雄一
2. 発表標題 東京医科歯科大学歯学部第5・第6学年の歯周治療臨床実習の現状
3. 学会等名 第61回春季日本歯周病学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三上理沙子, 水谷幸嗣, 武田浩平, 宮安杏奈, 岩田隆紀
2. 発表標題 前歯部の審美不良を伴う広汎型重度慢性歯周炎患者に対して歯周組織再生療法と歯周形成手術を 含む治療を行った一症例
3. 学会等名 第63回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤野愛子, 武田浩平, 水谷幸嗣, 三上理沙子, 石角 篤, 木平成子, 竹内俊介, 伊藤裕理, 岩田隆紀
2. 発表標題 2型糖尿病が歯肉毛細血管に及ぼす影響
3. 学会等名 第63回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2020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
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------