

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791845

研究課題名(和文) 半導体レーザーにより誘導される歯髄内硬組織形成機構を
免疫組織化学的に解明する研究課題名(英文) Tertiary dentin formation induced by GaAlAs laser irradiation in the dental pulp:
An immunohistochemical study

研究代表者

重谷 佳見 (SHIGETANI YOSHIMI)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：80397132

研究成果の概要(和文):

本研究目的は、半導体レーザー照射後の歯髄反応を明確にすることである。本研究より、レーザー出力の強度が歯髄治癒過程を決定する事が分かった。つまり、高出力照射後、歯髄内にアポトーシスを引き起こし、その後 HSP-25 陽性領域で細胞増殖が起き、結果として硬組織形成が認められるようになる。このように、半導体レーザーは歯髄内硬組織形成を誘導する事が出来ると考える。

研究成果の概要(英文):

This study aimed to clarify pulpal responses to GaAlAs laser irradiation. The output energy determines pulpal healing patterns after GaAlAs laser irradiation: the higher energy induces the apoptosis in the affected dental pulp including odontoblasts followed by active cell proliferation in the intense HSP-25-immunoreactive areas surrounding the degenerative tissue, resulting in abundant tertiary dentin formation. Thus, the optimal GaAlAs laser irradiation elicited intentional tertiary dentin formation in the dental pulp.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：レーザー, 免疫組織化学, 歯髄

1. 研究開始当初の背景

近年、窩洞形成、象牙質知覚過敏処置、覆髄等のさまざまな用途に対する各種歯科用レーザーの有効性が注目され、臨床応用

が試みられている。臨床応用に向けて、レーザー照射後の象牙質・歯髄複合体の反応様式の理解が極めて重要になるが、その科学的基盤となるのが歯髄の生物学的特性の理解である。ところが、レーザー照射に対

する象牙質・歯髄複合体の反応様式についての知見は未だ十分とはいえず、この方面の検討が急務となっている。

2. 研究の目的

ラット臼歯を用いて、半導体レーザー照射後の象牙質・歯髄複合体の反応を免疫組織化学にて多面的に検索することにより、これまで不明確であった同レーザー照射後の象牙質・歯髄複合体の反応様式、特に硬組織形成誘導機構を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

生後8週齢 Wistar 系雄性ラットの上顎第一臼歯近心に、半導体レーザー装置（オサダライトサージ 3000）を用いて、出力 0.5W もしくは 1.5W、60 秒 X 3 回照射の条件でレーザー照射を行った。レーザー非照射の反対側同名歯を対照とした。照射直後あるいは 1 から 14 日後に 4%パラホルムアルデヒド液で灌流固定し、10%EDTA にて脱灰後、通常に従ってパラフィン切片を作成し、HE 染色による組織学的観察を行うとともに、象牙芽細胞の分化マーカーである Hsp-25 あるいは nestin 発現細胞、BrdU で標識された増殖細胞および TUNEL 染色法を用いたアポトーシスの局在を解析した。

4. 研究成果

0.5W 照射群では、照射直後 Hsp-25 および nestin 陽性反応の消失がみられたが、1 日目以降で Hsp-25 および nestin 陽性反応が再び観察され、結果として 14 日後にはわずかな硬組織形成が認められた。BrdU および TUNEL 陽性細胞は、ほとんど認められなかった。

1.5W 照射群では、照射直後より象牙芽細胞を含む歯髄細胞の変性が観察され、nestin 陽性反応の消失とともにその範囲が拡大した。

一方、Hsp-25 は変性層周囲に強陽性反応を示した。TUNEL 陽性細胞は 1 日目以降、BrdU 陽性細胞は 2 日目以降に認められた。7 日目までに Hsp-25 および nestin 陽性反応が再び観察され、結果として 14 日後には多量の硬組織形成が認められた。

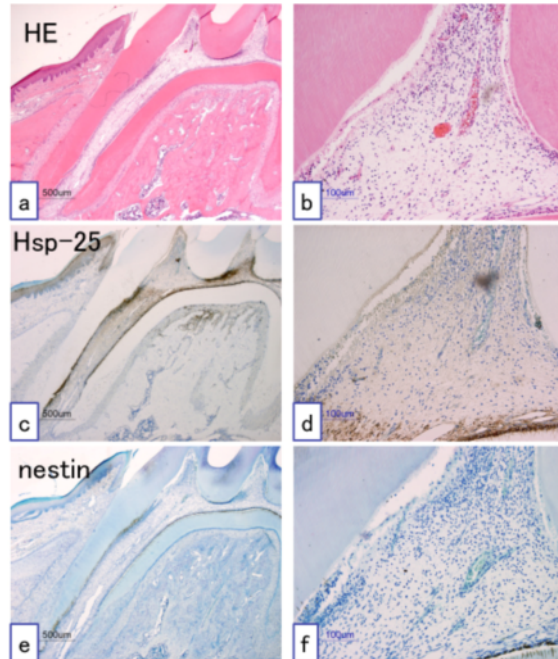


Fig.1 1.5W 照射後 1 日経過例
a,b:H-E 染色; c,d : Hsp-25 免疫染色;
e,f: nestin 免疫染色

象牙芽細胞を含む歯髄細胞の壊死が照射部近傍に観察される(a,b)。壊死層周囲に Hsp-25 強陽性反応が観察される(c,d)。 (c,d)。 nestin 陽性反応消失領域の拡大がみられる(e,f)。

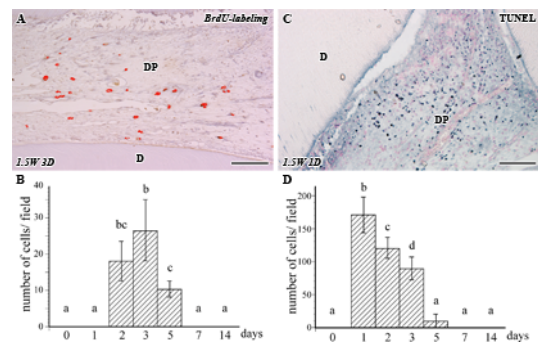


Fig.2 BrdU および TUNEL 陽性細胞
A: BrdU 陽性細胞; B: BrdU 陽性細胞数; C: TUNEL 細胞; D: TUNEL 陽性細胞数

以上のことから、GaAlAs レーザーの照射出力により、歯髄反応、およびその後の硬組織形成にも違いが生じた。

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)

1. 重谷佳見, 大倉直人, 吉羽邦彦, 吉羽永子, 大島勇人, 興地隆史: 半導体レーザー照射後のラット臼歯における非コラーゲンタンパクの遺伝子発現; 日歯保存誌, 53(5), 495-501, 2010, 査読有.

[学会発表](計7件)

1. 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.
2. 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29-30日, プログラムおよび講演抄録集: 188頁.
3. 重谷佳見, 大倉直人, 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における硬組織関連タンパクの遺伝子発現. 第31回日本歯内療法学会学術大会, 東京, 2010年7月25日. 日本歯内療法学会学術大会プログラム・講演抄録集: 110頁.
4. 重谷佳見, 大倉直人, 吉羽邦彦, 細矢明宏, 吉羽永子, 興地隆史: 半導体レーザー照射後のラット臼歯における非コラーゲンタンパクの遺伝子発現. 日本歯科

保存学会2010年秋季学術大会(第133回), 北海道, 2010年10月29日, 日歯保存誌, プログラムおよび講演抄録集: 161頁.

5. Shigetani Y, Sasa N, Suzuki H, Yoshiba K, Yoshiba 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.
6. Shigetani Y, Ohkura N, Sasa N, Yoshiba K, Yoshiba 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 27-28, 2010.
7. Shigetani Y, Ohkura N, Hosoya A, Yoshiba N, Yoshiba K, Ohshima H, Okiji T: Temporal Changes in mRNA expression of mineralized tissue matrix proteins in GaAlAs laser-irradiated rat molars, IFEA 8th Endodontic World Congress. Greece, October 6-9, 2010.

[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：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

重谷 佳見 (SHIGETANI YOSHIMI)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号：80397132

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：