

論文審査の結果の要旨

氏名：深井 譲滋

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ヒト歯髄細胞における異なる波長の半導体レーザーの硬組織形成におよぼす影響

審査委員：（主査） 教授 小方 頼昌
（副査） 教授 平塚 浩一
教授 松島 潔
教授 吉垣 純子

保存治療における歯髄の保存は、患歯の予後に大きく影響すると言われている。現在では露髄した面に水酸化カルシウム製剤や Mineral trioxide aggregate (MTA) を用いたカルシウムを主体とした直接覆髄法が臨床応用されている。しかし、従来の直接覆髄法では不均一な象牙質を形成する可能性があるために臨床では抜髄処置に移行することも少なくない。そのため歯髄組織を保存するためには、より確実に硬組織形成を促す必要があると考えられている。

近年では出力の低いレーザー光線を生体組織に照射することによって、創傷治癒促進、血流改善、疼痛緩和、神経賦活等の効果を得ることを目的とした低出力レベルレーザー治療 (Low level laser therapy ; LLLT) が注目されている。レーザーは発生物質によって、固体レーザー、気体レーザー、液体レーザーや半導体レーザーなどに分類される。半導体レーザーは波長特異性、すなわち水分および血中ヘモグロビンの吸収係数が低いことを利用して、生体内深部組織までエネルギーが到達する組織透過性レーザーとして知られている。歯科においても半導体レーザーはその波長特異性を応用し、LLLTによる歯周組織の消炎作用、骨や歯髄における硬組織形成促進作用、直接覆髄法への臨床応用が期待されている。歯内療法分野では 660 nm あるいは 810 nm の半導体レーザーをヒト歯髄培養細胞 (hDPC) に照射することで、硬組織形成能が促進されるとの報告がある。しかしながら、レーザーの出力や照射時間および使用する波長が報告によりまちまちである。

修復象牙質の形成という面から見ると、歯髄において硬組織形成は炎症と密接に関わると考えられている。炎症のケミカルメディエーターである prostaglandin E₂ (PGE₂) を、ヒト歯髄培養細胞に対し低濃度で刺激すると硬組織形成が促進し、高濃度で刺激すると硬組織形成が抑制されるという二面性の働きを持つと報告されている。さらに生理活性物質の中で骨形成因子の一つ Bone morphogenetic protein (BMP) の発現もまた、炎症性ケミカルメディエーターの影響を受ける。特に BMP-2 は強力な骨形成促進作用を有するといわれ、歯髄における未分化細胞の象牙芽細胞への分化に関与し硬組織形成を促進するものと考えられている。BMP のシグナル伝達には主に smad が関与しているとされる。BMP がレセプターに結合した際、特異型 smad に分類される smad1, 5, 8 が BMP レセプターによりリン酸化され、共有型 smad に分類される smad4 と複合体を形成し、核内へと移行する。抑制型 smad に分類される smad7 は特異型 smad のレセプターによるリン酸化に競合するか、特異型 smad に結合することで特異型 smad と共有型 smad の複合体形成を阻害することでその作用を抑制する。過去の報告から高濃度 PGE₂ による硬組織形成の抑制には smad6 が関与すると考えられている。臨床において覆髄処置が必要となる歯髄は炎症が起こりやすい状態、もしくはすでに炎症が起こっている可能性を考慮しなければならない。従って、臨床において成功率の高い覆髄法を確立するためには、硬組織形成と同時に炎症のコントロールが必須であり、この目的に半導体レーザーが応用できないかと考えた。

本論文は、半導体レーザーの硬組織形成能の機序を解明するために、同出力下における「波長」の相違に焦点を合わせ、hDPC に対する半導体レーザーの硬組織形成能を評価した。さらに、高濃度 PGE₂ を刺激させた hDPC に対して、半導体レーザーが与える硬組織形成能の影響について解析した。

その結果、hDPC に対し出力を 300 mW に統一した波長 660 nm および 810 nm の半導体レーザー照射は、非照射群に比べ 660 nm と 810 nm 照射どちらの群においても ALP 活性の上昇、Osteocalcin の遺伝

子発現量の増加, von Kossa 染色での染色性の増大が認められた. BMP-2 タンパク質の発現量は, 660 nm 照射群では非照射群に比べ有意に増加したが, 810 nm 照射群では非照射群に対して有意な差は認められなかった. また, 同レーザーを照射後, 高濃度 PGE₂ を添加し, hDPC の硬組織形成能の違いを検討したところ, 高濃度 PGE₂ 添加群では von Kossa 染色の染色性減少が認められたが, あらかじめレーザー照射した群では, 非刺激群と同程度の染色を認めた. また非刺激群と比較し, 高濃度 PGE₂ 添加群では BMP-2 および smad6 の遺伝子発現量の増加が認められた. 660 nm のレーザー照射をあらかじめ PGE₂ 添加前に行った群では, BMP-2 の遺伝子発現量は増加し, smad6 の遺伝子発現量は非刺激群とほぼ変わらなかった. 810 nm のレーザー照射後の PGE₂ 添加群では, BMP-2 と smad6 の遺伝子発現量は共に無刺激群と同程度であるが, smad6 のタンパク質発現は非照射・PGE₂ 添加群と同程度の発現が認められた.

以上の結果から本論文の著者は, 660 nm, 810 nm の半導体レーザー共に, 硬組織形成を促進させるが, PGE₂ があると smad6 を増加させて硬組織形成は抑制されること, また 660 nm の半導体レーザーは smad6 産生を抑制することで PGE₂ の硬組織形成抑制作用を打ち消すことが示唆された. 810 nm の半導体レーザーでも同様に PGE₂ による硬組織形成抑制作用を打ち消すものの, BMP-2 と smad6 を介さない別の制御機構の存在が推測されると結論付けている.

これらの結果は, 覆髄処置が必要な歯髄の硬組織形成に対する半導体レーザーの効果とその作用機序について新たな知見を得たものであり, 歯科医学ならびに歯科保存臨床に大きく寄与し, 今後一層の発展が望めるものである.

よって本論文は, 博士 (歯学) の学位を授与されるに値するものと認められる.

以 上

平成30年2月22日