（様式第 13 号）

2015 年　12 月　18 日

学位論文審査の結果及び最終試験の結果の要旨

学位申請者氏名	若林　庸生	
学位論文名	CO_2 レーザー照射はチタン上のヒト歯根膜線維芽細胞に対するリポ多糖（LPS）の影響を抑制し細胞の増殖および機能を回復させる CO_2 laser radiation restores the changes caused by lipopolysaccharide (LPS) in human periodontal ligament fibroblasts cultured on titanium	
論文審査委員	主査：　松本歯科大学　教授　高橋　直之　㊞	
	副査：　松本歯科大学　教授　各務　秀明　㊞	
	副査：　松本歯科大学　講師　落合　隆永　㊞	
	副査：　㊞	
	副査：　㊞	
	副査：　㊞	
最終試験	実施年月日	2015 年　12 月　17 日
	試験方法	口答

学位論文の要旨

【目的】インプラント周囲炎に対して、レーザーを用いた外科治療が応用されるようになってきた。しかし、レーザーがどのようにインプラント表面や歯肉組織に影響を与えるかを記載した報告は少ない。そこで本研究では、CO_2 レーザー照射がチタン材料研磨表面と粗造表面の表面形状にどのような影響を及ぼすかを解析した。チタン研磨面と粗造面上で培養したヒト歯根膜線維芽細胞に対する CO_2 レーザー照射の影響を解析した。さらに、リポ多糖（lipopolysaccharide、LPS）で処理した後に CO_2 レーザーを照射し、細胞数と細胞機能の回復を評価した。

【材料および方法】チタン板（JIS Grade 2）を研磨処理あるいは粗造処理に供した。これらのチタン板に CO_2 レーザーを出力 20w/秒にて 60 秒間照射し、チタン表面の形状変化を共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。また、研磨および粗造チタン板上でヒト由来歯根膜線維芽細胞を培養し、それに CO_2 レーザーを出力 20w/秒にて 60 秒間照射した。CO_2 レーザー照射 3 日後と 7 日後の細胞を観察した。また、チタン板上で培養したヒト歯根膜線維芽細胞を LPS(100ng/ml、1μg/ml)で 3 日間処理し、そこで CO_2 レーザーを照射した（出力 20w/秒、60 秒間）。CO_2 レーザー照射 3 日後と 7 日後の細胞を観察した。4',6-diamidino-2-phenylindole （DAPI）染色により細胞数を評価した。細胞付着状態はアクチン染色によって評価した。I 型コラーゲンおよび vascular endothelium growth factor （VEGF）の遺伝子の発現は reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法で、またそれらのタンパク質発現は免疫染色法で観察した。

【結果】①CO_2 レーザー照射により、チタン研磨面および粗造面に形状変化は認められなかった。②CO_2 レーザー照射により、チタン研磨面および粗造面上のヒト歯根膜線維芽細胞の細胞数は 3 日目に減少したが、7 日目では研磨面および粗造面の表面全体はヒト歯根膜線維芽細胞で覆われていた。③LPS 添加により、チタン研磨面および粗造面上のヒト歯根膜線維芽細胞の細胞増殖は 7 日目まで抑制されていた。一方 CO_2 レーザー照射群 7 日目では、LPS による細胞増殖抑制から回復していた。④I 型コラーゲンの mRNA 発現は、LPS 添加により低下したが、CO_2 レーザー照射群では培養日数に比例して増加した。VEGF の mRNA とタンパク質発現も LPS 処理群では低下したが、その抑制は CO_2 レーザー照射により解除された。チタン研磨面上および粗造面上で培養した細胞において、これらの傾向は同様に認められた。

（様式第 13 号）

【考察】研磨および粗造のチタン表面への CO_2 レーザーの照射は、それらの表面形態に変化を与えなかったことより、CO_2 レーザー照射はチタン表面の形状変化を誘導しないと結論された。また、LPS はヒト歯根膜線維芽細胞の増殖や機能を抑制することが示された。CO_2 レーザーの照射は LPS によるヒト歯根膜線維芽細胞への影響を抑制し、細胞増殖および機能発現を回復させた。チタン研磨面上および粗造面上で培養した細胞において、これらの傾向は同様に認められた。以上より、チタン表面へのレーザー照射は、チタンの表面形状を変化させるとなく、周囲の細胞の増殖と分化を促進し、組織再生に必要なコラーゲン産生や血管形成を促すことが示唆された。

【結論】CO_2 レーザー照射は、インプラント表面の形状を変化させることはなく、周囲の細胞の増殖と分化を促進する可能性が示された。

学位論文審査結果の要旨

口腔インプラント治療において、インプラント周囲炎の予防と治療は極めて重要である。近年、その治療にレーザーによる外科治療が応用されるようになってきたが、レーザー治療を支持する Evidence(証拠)が少ないのが現状である。本研究では、CO_2 レーザー照射は、チタンの表面形態に変化を与えるか、またチタン上の細胞の動態にどのような影響を及ぼすかを解析した。その結果、CO_2 レーザー照射は、チタンの表面形状に関わらず、その表面形態に変化を与えなかった。また、CO_2 レーザーの照射はヒト歯根膜線維芽細胞に対する LPS の影響を抑制し、細胞増殖および機能発現を回復させた。以上のことより、チタン表面へのレーザー照射は線維芽細胞の増殖と分化を促進し、組織再生に必要なコラーゲン産生や血管形成を促すことが示唆された。

CO_2 レーザー照射は歯周病細菌に対する殺菌効果があると報告されている。本研究より、CO_2 レーザー照射は、殺菌効果に加えて、チタン周囲の歯肉結合組織に作用し組織修復を促す可能性が示された。

以上、本論文の研究目的は明確であり、研究方法は妥当であった。得られた結果も明確かつ重要であった。さらに本論文には、歯科治療と歯学研究に対して重要な知見を提供していると評価した。以上より、本論文審査委員は、全会一致で本論文は学位論文にふさわしいと判定した。

最終試験結果の要旨

2015 年 12 月 17 日(木)、実習館 2 階セミナールームにて、本学位申請者、主指導教員(司会)、主査および副査の同席にて、学位論文審査および最終試験（口頭試問）が行われた。提出された学位論文を中心に、論文内容が審議された。本論文に関して各審査委員から、様々な意見と質問が出された。それらの意見や質問に対し、本申請者は明確に答えることができた。

また本申請者は、歯科治療におけるレーザー治療の重要性および CO_2 レーザーを用いたインプラント周囲炎治療の将来展望についても明確に述べることができた。

口頭試問における質問事項は以下のとおりである。

1. CO_2 レーザーはどのような機序で、歯周組織を回復させると考えられているのか。
2. 2 つの遺伝子 I 型コラーゲンと VEGF に着目した理由は何か。
3. チタンの研磨面と粗造面の両者を CO_2 レーザーの照射対象とした理由は何か。
4. 歯科治療に用いられるレーザーの種類と特徴は何か。
5. LPS による組織破壊はどのような機序で誘導されるか。

上記の質問に対して、本申請者は明確に回答した。以上より、本学位審査会は、本申請者は、博士(歯学)としての十分な専門知識を有するものと認め、最終試験を合格と判定した。

判　定　結　果	合格

備考

1　学位論文名が外国語で表示されている場合には、日本語訳を（　）を付して記入すること。
2　学位論文名が日本語で表示されている場合には、英語訳を（　）を付して記入すること。
3　論文審査委員名の前に、所属機関・職名を記入すること。