

# Er:YAG(ライトタッチレーザー)骨照射後の血小板由来成長因子の分泌と骨治癒

Gavriel Kesler, DMD<sup>1</sup>  
 Dana Kesler Shvero, DMD<sup>2</sup>  
 Yariv Siman Tov, DVM<sup>3</sup>  
 George Romanos, DDS, DMD, PhD<sup>4\*</sup>

Er:YAGレーザー照射は創傷治癒を促進することが報告されている。しかし、レーザー照射後の成長因子の合成を評価した研究はない。本研究では、レーザー照射が創傷における血小板由来成長因子(PDGF)の分泌量に及ぼす影響を検討し、Er:YAGレーザーが骨治癒に及ぼす影響を明らかにした。28匹のラットの脛骨にEr:YAGレーザーを用いて骨切りを行った(試験群)。最大出力は8ワット、1パルスあたりのエネルギーは700mJ、周波数は50Hzまで使用した。レーザーは、外部からの水による灌流、スポットサイズ2mm、パルスあたりのエネルギー500~1000mJ/パルス、エネルギー密度32J/cm<sup>2</sup>で使用した。さらに28匹のラットを対照群として、直径1.3 mmのドリルを用いて1000 rpmで骨切りを行い、同時に生理食塩水を注入した。試験群から2匹、対照群から2匹を、手術後(1~14日)の各日に犠牲にし、組織学的評価のために組織標本を作製した。組織学的検査の後、抗PDGFによる免疫組織化学染色を行った。2つの治療群のPDGF染色強度の差を、多変量ロジスティック回帰検定を用いて解析した。PDGF染色の有意な上昇は、両群とも術後2~3日目に起こった。しかし、レーザー群では高いPDGF数が2週間の実験期間中維持されたのに対し、コントロール群のPDGFレベルは術後8日目にベースラインレベルに戻った。2群(レーザー群とコントロール群)は実験を通して異なっており、ラットタイプが有意な予測因子であることが判明した(P=0.000011)。本研究では、Er:YAGレーザー照射がラットモデルの骨切り部位のPDGFの分泌を刺激する可能性が示された。高レベルのPDGFは、Er:YAG照射が骨切り部位の治癒を促進し、改善するメカニズムの一部である可能性がある。

**Key Words:** bone healing, Er:YAG laser, PDGF

<sup>1</sup> Dental Laser Clinic, Department of Oral Rehabilitation, The Maurice and Gabriela Goldschleger School of Dental Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel.

<sup>2</sup> Hadassah Dental School of Medicine, Jerusalem, Israel.

<sup>3</sup> Assaf Harofeh Medical Center, Rishon Lezion, Israel.

<sup>4</sup> Eastman Dental Center, Division of Periodontology, Unit of Laser Dentistry, University of Rochester, Rochester, NY.

\* Corresponding author, e-mail: Georgios\_Romanos@urmc.rochester.edu

DOI: 10.1563/AAID-JOI-D-09-00120.1

## INTRODUCTION

Er:YAGレーザー(2940 nm)は、主に水に吸収される波長であるため、熱損傷を最小限に抑えながら、効率的かつ効果的に骨をアブレーションすることが証明されている<sup>1,2</sup>。この波長は、3000 nm付近に比較的広い

1 Dental Laser Clinic, Department of Oral Rehabilitation, The Maurice and Gabriela Goldschleger School of Dental Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel.

2 Hadassah Dental School of Medicine,

Jerusalem, Israel.

3 Assaf Harofeh Medical Center, Rishon Lezion, Israel.

4 Eastman Dental Center, Division of Periodontology, Unit of Laser Dentistry, University of Rochester, Rochester, NY.

水反応バンドがあるため、水への吸収が主な吸収となる<sup>3,4</sup>。これは通常、エナメル質、象牙質、セメント質、骨の結晶の間に水が存在するためである。むし歯組織では、失われたミネラルに代わって、さらに大量の水が存在する。この波長による硬組織のアブレーションを理解する鍵は、この波長が水に吸収され、表面下の水が過熱されることが主な原因である。エナメル質、象牙質、骨、歯槽骨、う蝕組織の順に、ミネラル密度は低く、水分の位置は高くなる<sup>5,6</sup>。

加えて、組織中の（炭酸化した）水酸アパタイト鉱物の水酸基による<sup>2800nm</sup>付近のわずかな吸収がある<sup>7-9</sup>が、これは水への影響によってはるかに凌駕される。残念なことに、硬組織に対するレーザーの影響に関する多くの研究は、歯科用ミネラルがこれらの波長を強く吸収するという誤った考えを永続させてきた。これは正しくないだけでなく、この波長のレーザーを照射することでアブレーションが起こるメカニズムを理解する上で誤解を招き、装置の使用に誤解を生じさせる。レーザーがミネラル質を直接アブレーションすることで効果的に吸収されると、結晶自体が融点以上に加熱され、結晶構造に何らかの破壊が生じ、その後異なる形で再固化することがある。また、格子間自由水への伝導性熱伝達もある<sup>10-12</sup>。Er:YAGとEr,Cr:YSGGの波長の開発により、比較的高エネルギーのフルエンスを用いて、隣接する部位へのダメージを最小限に抑えながら骨切除を行うことが可能になった。歯槽骨手術におけるエルビウムレーザーの使用は、低速の外科用バーの激しい振動と比較すると、患者にとって外傷の少ない経験である。歯の組織切除と同様に、組織の切断は熱による爆発的なプロセスだ。<sup>13,14</sup>

治癒を遅らせる熱損傷を防ぐために、同軸の散水を維持することが不可欠である。

骨組成は、レーザーと組織の相互作用の観点から、象牙質と非常に類似している。したがって、上顎の歯槽骨では、レーザー切断の速度はバーによる切断と同等であり、下顎では皮質骨のミネラル密度が高いことを反映して、わずかに遅くなる。

破片による"切削失速"効果を軽減し、血液飛散を最小限に抑えるために、過度の出力パラメータを避けることが重要である。**350-500mJ/10-20pps**（平均出力範囲**3.5-7.0**ワット）のレーザー出力値と最大水噴霧が良好な切除率をもたらすようである。レーザー照射された骨の治癒に関する研究は、従来の外科用バーの使用と比較して、物理的外傷、組織加熱、細菌汚染などの影響が減少するため、合併症のない治癒プロセスが得られるという主張を支持している<sup>15-17</sup>。レーザーで切除された骨の表面をマイクロ分析すると、熱損傷の痕跡はほとんど見られず、炭化層はわずかながら深い20~30mmの最小領域に限られているようである。これはチップの当て方によって改善されると考えられた。Er:YAGレーザー治療後は、熱効果が低いため出血が増加するが、このレーザーのデコルチケーション効果により、特に最初の数日間は新生骨の形成が促進される<sup>20,21</sup>。

Er:YAGレーザー骨アブレーションは、バードリルと比較して、スミア層のない不規則な微小表面を形成するため、レーザーで粗面化された骨表面の機械的捕捉効果により、フィブリン付着が増加し、赤血球の凝集が促進される。これは血栓の付着に有利であり、新生骨の形成を促進するEr:YAGレーザー照射は、周囲の細胞を活性化することで低い出力のレーザーのような効果を発揮し、創傷治癒過程<sup>23</sup>、線維芽細胞増殖過程<sup>22</sup>、コラーゲン合成過程<sup>26</sup>、骨再生過程<sup>25</sup>において生体刺激効果を発揮する。

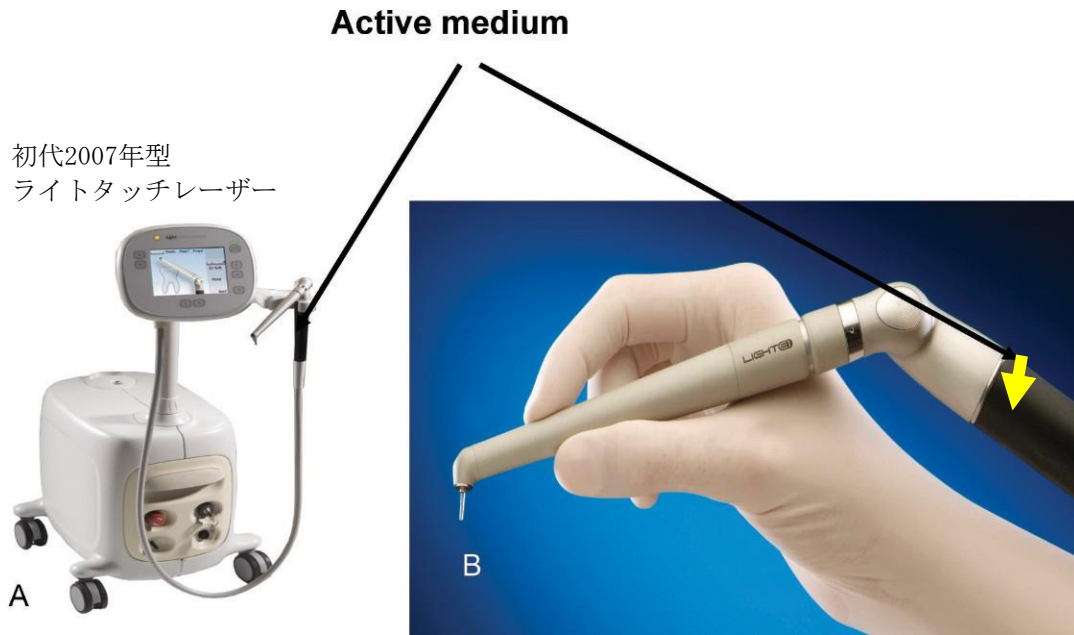


図1. イスラエルのSyneron社製Er:YAGレーザーLiteTouch。(A) レーザーの概要：活性媒質はハンドピース内にある。(B) ハンドピースの概要。

Pourzaran-dianら<sup>26</sup>は、Er:YAGレーザー照射が血小板由来増殖因子（PDGF）の産生を介して培養ヒト線維芽細胞の増殖を刺激することを報告した。Keslerら<sup>25</sup>は、ウサギを用いた試験で、Er:YAGレーザーによるインプラント埋入部位の前処置は、従来の骨切り術に比べ、良好な治癒をもたらし、骨とインプラントが接触する割合が有意に高いことを示した。Lubartら<sup>27</sup>は、Er:YAGレーザーが活性酸素種を放出して創傷治癒を促進することを報告している。

現在までのところ、Er:YAGレーザー照射後の骨治癒のメカニズムに関する詳細な組織学的・組織化学的評価は行われていない。本研究の目的は、Er:YAGレーザー照射後の骨欠損の治癒の改善は、少なくとも部分的には骨切り部位におけるPDGFの局所的蓄積によるものであるという仮説を検証することである。

## 材料と方法

この研究は、イスラエルのAssaf Harofeh Medical CenterのInstitutional Research Ethics Committeeによって承認された。

体重350-400gのSprague-Dawley系雄性ラット56匹（4ヵ月齢）を28匹ずつ2群に分けた。すべてのラットの体重をグラム単位で測定した。実験中、餌と水は自由摂取とした。ラットは揮発性ガス（エンフルラン）で麻酔され、剃毛、スクラブ、ドレープを施して術野を確保した。脛骨の内側近位面を1.5cm切開し、脛骨原基の上方に位置する。組織を反転させ、関節下の脛骨の平坦部を露出させた。

## レーザーグループ

使用したEr:YAGレーザーは、Syneron社（イスラエル、Yokneam-illit）のLiteTouch（ライトタッチ）である。このレーザーはダイレクトデリバリーシステムを採用し、レーザー発振媒質はハンドピースのベースに内蔵され、最大出力は8ワット、1パルスあたりのエネルギーは700mJ、周波数は最大50Hzであった。実験では、通常の手持ピースと外部からの水照射、スポットサイズ2mm、パルスあたりのエネルギー500～1000mJ/パルス、エネルギー密度32J/cm<sup>2</sup>を使用した（図1）。

28匹のラットがレーザー群となった。実験は通常10-15パルスで脛骨を穿孔した。

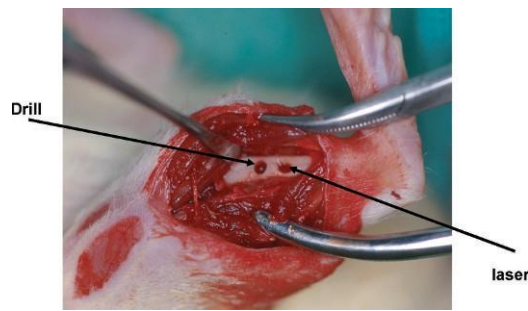


図2. レーザーとドリルで準備した骨部位。

パルスあたりの骨体積は $1.4\text{mm}^3$ 。エネルギーがアブレーション閾値以上であると仮定して、通常のハンドピースで1パルスあたり $0.66\text{mm}$ として、 $2\text{mm}$ のスポットサイズに対するクレーター深さを計算した。一次閉鎖は、縫合糸で筋層を縫合させ、外科用ステープルで皮膚を閉鎖することで各動物に達成された(図2)。

### コントロールグループ

28匹のラットを対照群とした。脛骨突起の近位に直径 $1.3\text{mm}$ のインプラント用ドリル(1000rpm)を用いて従来の骨切りを行った。大量の温生理食塩水を注入し、髄管を通して反対側の皮質軸まで達する斜め横向きの骨切りを行った。

### フォローアップ

動物は術後14日間追跡された。各群から2匹ずつ(試験群2匹、対照群2匹)のラットを1日目から14日目まで毎日癒痕化し、組織学的評価に供した。

### 組織学的評価のための標本の準備

脛骨を周囲組織とともに摘出し、軟組織を洗浄した後、10%緩衝ホルマリンで固定した。固定後、骨を脱灰液(DECAL-RAPID, BioGenex, San Ramon, Calif)に3日間入れた。

治療部位の骨片(各ラットから1枚ずつ)を、 $3\sim 5\text{mm}$ 幅で、垂直面内で内側から遠位に向かって連続的に切開した。組織サンプルはパラフィンブロックに包埋し、各ブロックから $5\text{mm}$ の切片をヘマトキシリンとエオジンで染色した。各ラットから2つの切片を分析した。

### 免疫組織染色

本研究で使用した抗体は、体外診断用として現在入手可能なものである。使用した免疫原は、ヘモシアニンと結合したPDGF-Bの合成ペプチドである。

本研究で使用した抗体は、体外診断用として現在入手可能なものである。使用した免疫原は、ヘモシアニンと結合したPDGF-Bの合成ペプチドである。スライドはメイヤーのヘマトキシリンで対比染色した。一般に、免疫組織化学による抗原の検出は、第一に一次抗体を目的の抗原に結合させ、第二に結合した抗体を発色剤で検出するという2段階のプロセスである。

パラフィン除去および水和後、切片を $10\text{mM}$ クエン酸緩衝液に浸し、プレッシャークッカーチャンバーに入れ、10分間電子レンジで加熱して最適な抗原回収を行った。内因性ペルオキシダーゼ活性は、スライドをメタノール中3%過酸化水素で10分間インキュベートすることによりブロックし、非特異的エпитープはブロッキング溶液(UltraVision; Lab Vision Corporation, Fremont, Calif)で10分間インキュベートすることにより除去した。スライドをヒト血小板由来増殖因子受容体(PDGFR)- $\alpha$ (1:200希釈; Lab Vision)に対して上昇させた一次抗体と60分間インキュベートした。スライドをすすいだ後、2次抗体としてビオチン、次いで酵素標識ストレプトアビジンと10分間インキュベートした(UltraVision detection system、抗多価ワサビペルオキシダーゼ/ジアミノベンジジン; Lab Vision)。

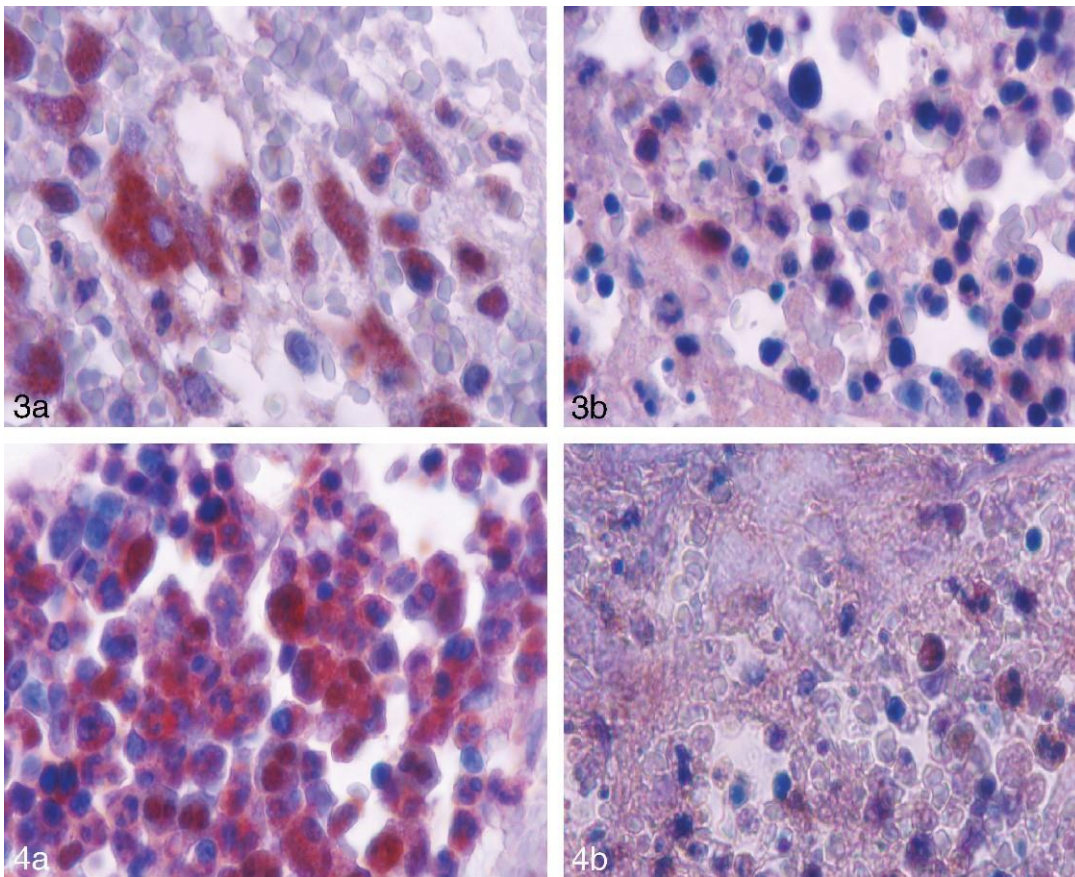


図3および4. 図3.手術2日後(3400)の血小板由来成長因子(PDGF)の免疫組織化学染色。(a)レーザー群陰性(3400)。(b)コントロール群陰性染色。図4.手術4日後のPDGFの免疫組織化学染色(3400)。(a)レーザー群強陽性染色。(b)対照群陽性染色。

PDGF陽性染色は細胞質に分布していた。毎日犠牲になった4匹のラットのそれぞれから2つの切片をブラインドで検査し、3人の独立した経験のある検査者が色の濃さを顕微鏡的に評価するために採点した。染色結果の解釈は各セクションで評価され、次のように染色強度を点数化した：強度(+0) 5 染色なし；強度(+1) 5 わずかに強い染色；強度(+2) 5 中程度の強度の染色；強度(+2) 5 中程度の強度の染色；および強度(+3) 5 高強度の染色。

各サンプルについて3人の検査者の結果を平均し、各ラットについて1つの結果を得た。

### 統計的評価

試験期間における2群(試験群と対照群)の効果(PDGF染色強度)の差を、多変量ロジ

スティック回帰分析を用いて解析した。PDGF染色強度の変動性(順序従属変数として0から3まで)を、ラットの種類(レーザー対コントロール)および犠牲の日に対して調べた。

### 結果

PDGF分泌に対するレーザー照射の刺激効果を評価し、先に述べた治癒の早さがPDGFによって媒介された可能性があるかどうかを調べるために、前述のように調べた。手術初めの2日間は、PDGF染色スコアは非常に低かった、そしてPDGF染色スコアは、どちらの治療法でも非常に低かった。両治療ともPDGF染色スコアは非常に低かった。レーザー群ではPDGF濃度は3日目から上昇し始め、4日目にピークに達し、試験期間中(14日目)は高値を維持した。

試験期間中(14日目)は高値を維持した。最も強い染色は4~6日目であった(図3~7)。

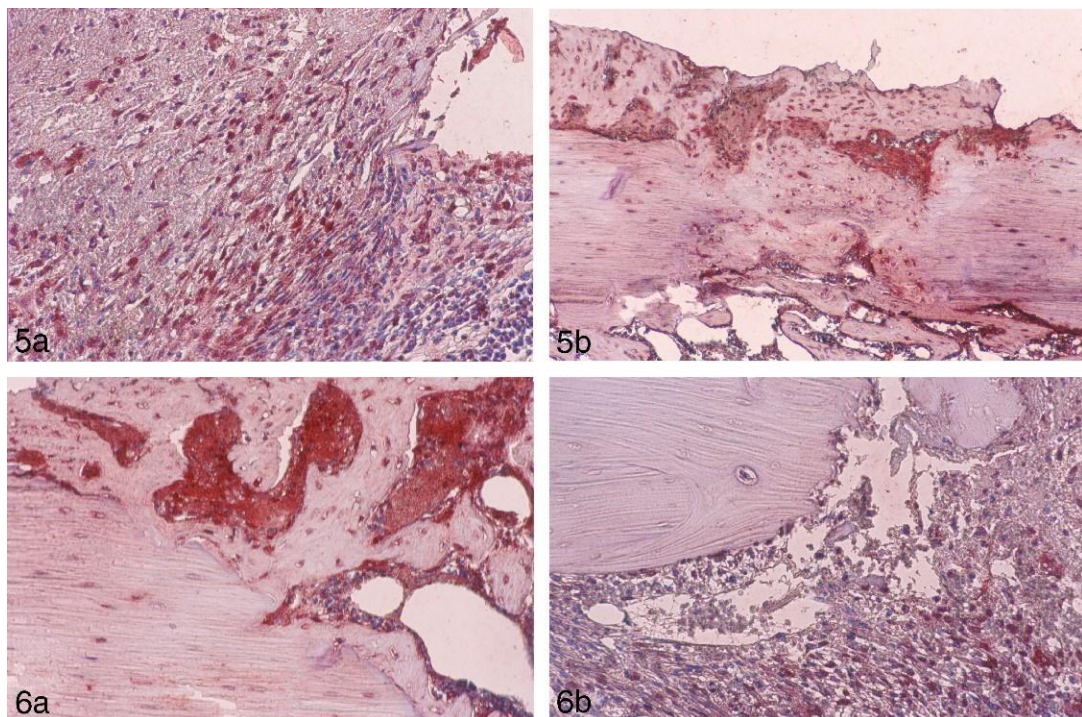


図5と図6. 図5 血小板由来成長因子 (PDGF) の免疫組織化学染色 (3400) 術後8日目。(a) レーザー群陽性染色。(b) コントロール群陰性染色。図6 手術14日後 (3400) のPDGFの免疫組織化学染色。(a) レーザー群陽性染色。(b) コントロール群 (0) 陰性染色。

対照群 (ドリル骨切り) では、PDGF値は術後4日目から上昇し始めた (レーザー群に比べ1日遅い)。

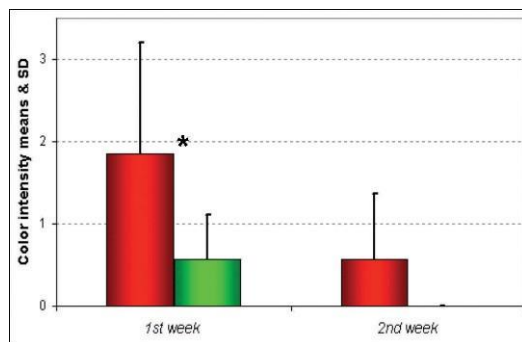


図7. 骨手術の2週間後における、レーザー群とコントロール群の血小板由来成長因子 (PDGF) の免疫組織化学染色結果。PDGFは少なくとも2週間はレーザー群で有意に高かった (P 5 .000011)。反復測定による分散分析:

\*P 5 .008. 治療効果: P 5 .002. 時間効果: P 5 .029.

4日目から7日目にかけては、染色スコアは高いままであったが、8日目 (手術後) にはPDGFレベルはベースラインレベルまで低下したが、レーザー群では高いままであった (図3~7)。

PDGF染色強度の変動性 (0~3度) を順序従属変数として、ラットの種類 (レーザー群と対照群) および犠牲の日に対して調べた (表)。ラットの種類 (治療の種類) は有意な予測因子であった (P 5 .000011)。

結果			
血小板由来増殖因子染色を順序従属変数として扱った多変量ロジスティック回帰の結果			
	自由度	Wald	P
切片	3	39.11773	.000000
Day	1	0.94176	.331827
Rat type	1	19.28514	.000011

## DISCUSSION

Er:YAGレーザーは、水とヒドロキシアパタイトに高吸収される波長を発生し、周囲の無傷な組織への熱損傷を最小限に抑えながら骨切除を行うことができる、最も効果的なレーザーのひとつである。<sup>3,30</sup> **本研究では、Er:YAGレーザー照射後の骨の治癒パターンが改善され、機械的埋入治療と比較してさらに速く治癒することを実証した。** Kesler Keslerら<sup>25</sup>は、ウサギの脛骨を用いたNelsonら<sup>29</sup>の報告に比べ、治癒の遅れはないと報告している。他の研究では、Er:YAGレーザー照射後の骨治癒に関する問題が扱われている。Bucheltら<sup>20</sup>およびLewandrowskiら<sup>21</sup>は、Er:YAGレーザーによる治療後、新たに形成された骨の量にドリルと比べて差はないと報告している。

過去の研究結果には食い違いがあるが、その原因の一つは、アブレーション中の水噴霧の使用（または使用なし）、出力エネルギーの繰り返し率、動物モデル、血管性の異なる組織での治療の違いにあると考えられる。本研究では、Er:YAGレーザー治療中に水スプレーを使用することで、大きな熱損傷を防ぐことができた。Er:YAGレーザーを空気及び注水なしで照射すると、過熱によって照射面にわずかな炭化が生じ、その結果、治癒プロセスを遅らせる可能性のある毒性産物が形成されることがある。<sup>19</sup> Belalら<sup>30</sup>による研究では、Er:YAGレーザー照射が歯周治療の効果を向上させる可能性が示された。一般に、骨治癒の過程は、3つが異なるが、重複する段階をたどる。簡単に言えば、初期損傷と初期炎症期に始まり、肉芽形成・増殖期が続き、後期リモデリング期で完了する。<sup>31,32</sup>

血小板は傷害部で特徴的に活性化され、出血を制限するための物理的バリアを作り、凝固プロセスを強化するためにトロンビンの生成を促進する。<sup>33</sup> 血小板はまた、白血球や内皮細胞と相互作用して炎症反応を調節するために、血栓形成能を

もつ局所メディエーターを放出することができる<sup>34</sup>。止血や炎症に加えて、血小板は創傷治癒や無機化組織の修復にも関与している<sup>35</sup>。血小板の生物学的活性は骨折に対する即時反応として起こるが、血小板の脱顆粒は血腫形成中に起こる。微小骨折では、損傷の臨床的徴候を伴わない血管破壊も起こる。<sup>36</sup> 血小板から放出される成長因子は、軟組織や骨髄の間葉系細胞の化学誘引物質である。<sup>37</sup> 血小板に多く含まれる成長因子は、骨膜細胞の増殖と分化を刺激し、顆粒球やマクロファージを骨折血腫に引き寄せることができる。<sup>38</sup> 血小板由来成長因子はほとんどすべての創傷治癒過程に関与している。損傷部位（例えば骨折）の血栓に強力な成長因子が直ちに存在すれば、骨の修復が促進されると予想される。

PDGFは分子量約30kDの糖タンパク質である。<sup>39,40</sup> 血小板の主要な成長因子であるが、マクロファージや内皮細胞など他の細胞でも合成・分泌される。<sup>41</sup> PDGF AA、PDGF BB、PDGF ABと呼ばれる3本の鎖のヘテロ二量体として存在し、その大きさと分子量はほぼ等しい（約14~17kD）。A-A鎖とB-B鎖のホモダイマーはヒト血小板にも存在し、骨再生に同じ効果を示す。<sup>39,40</sup> PDGFR-aとPDGFR-bの2つの細胞表面タンパク質チロシンキナーゼ受容体には、全ての型が高い親和性で結合する。PDGFの生物学的作用はこれら2つの受容体によって媒介される。PDGFは創傷治癒や血行再建における臨床的有用性が研究されてきた。創傷治癒において活性化される主要な因子の一つであり、上皮性腫瘍形成において内生促進因子として重要な役割を果たしている。

PDGFは、様々なコラーゲン、プロテオグリカン、ラミニンを含む細胞外マトリックス成分の過剰産生を引き起こす。PDGFは平滑筋細胞の静脈の新生を刺激することが分かっているが、それはヒアルロン酸分解酵素で処理した培養物においてのみである。PDGFは間質細胞の最も強力な活性化因子の一つである。PDGFは細胞外マトリックス成分の合成を調節する。塩基性線維芽細胞増殖因子/PDGF比率の変化は、加齢に伴う静脈壁の細胞外マトリックスの組成を変化させ、その結果様々な疾患に対する感受性を変化させる可能性がある。増殖と移動はメサンギウム細胞傷害に対する重要な反応である。PDGFは糸球体疾患におけるこれらの反応を媒介する有力な候補であり、糸球体傷害の際、PDGFとPDGFRは通常メサンギウムで上昇する。損傷部位（骨折など）の血栓中に強力な成長因子が即座に存在すれば、修復が早まり、生存の可能性が高まると期待される。このように、特にPDGFは創傷治癒に多くの好影響を与えるようである。血栓中の血小板の存在により、血小板は創傷における最初の成長因子となり、血行再建、コラーゲン合成、骨再生へと導く。

P血小板由来の成長因子は、血小板が脱顆粒する際に傷口全体に放出される。血小板100万個あたり約0.06ngのPDGFが存在する。<sup>42</sup> これは、血小板1個あたり約1200分子のPDGFが存在する計算になる。<sup>43</sup> このような数字は、PDGFの強力を際立たせ、創傷治癒と骨再生を促進する大きな可能性を強調している。PDGFの作用は、PDGFが細胞膜のレセプターに結合することによって媒介される。この結合により、高エネルギーリン酸結合を持つ細胞質内シグナルタンパク質が活性化される（キナーゼ活性）。<sup>42</sup>

創傷内における血小板の寿命とその成長因子の直接的な影響は5日未満である。治癒と骨再生活性の拡大は、2つのメカニズムによって達成される。

1つ目は、骨髄幹細胞の骨芽細胞への増加と活性化であり、骨髄幹細胞はトランスフォーメーション成長因子B（TGF-b）とインスリン様成長因子（IGF）を骨質マトリックスに分泌する。第二の、そしてより支配的なメカニズムは、マクロファージの走化性と活性化であると思われ、マクロファージは3日目以降、血小板に代わって成長因子の主要供給源となる。<sup>18</sup> マクロファージはPDGFの作用によって骨に引き寄せられる。PDGFの影響が弱まると、マクロファージ由来の増殖因子と血管新生因子が後を引き継ぐ（5～7日目）<sup>43</sup> マクロファージ由来の成長因子や血管新生因子は、マクロファージによって合成されるだけで、実際にはPDGFと同一である可能性がある。骨髄幹細胞はTGF-bとIGFを分泌し、自己分泌反応として骨形成を自己刺激し続ける。<sup>43</sup>

これらの結果にもかかわらず、血小板と血球の相互作用を媒介する因子がPDGFだけであるかどうかは、依然として不明である。骨形成細胞をリクルートする能力を含むPDGFの生物学的プロファイルは、骨粗鬆症、糖尿病、喫煙の影響などの併存疾患に見られる骨格欠損に対処するのに特に適している。遺伝子組換えヒトPDGF（rhPDGF）の歯周病欠損修復における臨床的成功と安全性が実証されたことにより、rhPDGFはこの適応症として米国食品医薬品局（FDA）に承認された。<sup>39</sup>パラメーター60 mJ/パルス、10 Hz32のEr:YAGレーザーとrhPDGFの併用は、ヒト歯根膜細胞にとって強力な刺激因子であり、強いマイトジェン（分裂促進因子）であることが証明されている。我々の研究では、レーザー補助骨切り術におけるPDGFの有意効果は、従来の骨切り術では4～7日であったのに対し、最大2週間続いた。Er:YAGレーザーによる骨切り術では、従来の骨形成術よりも、レーザーによるPDGFの形成が、より高い骨密度をもたらす可能性があることが、研究により示された。



Er:YAGレーザー照射によって形成される粗面化された骨表面は、細胞付着のための機械的トラップ(補足)となり、骨治癒のための基本的な要件であり、本研究で指摘された結果を生み出すのに役立っている可能性がある。この所見は、Er:YAGレーザー照射した骨組織では治癒がより迅速に起こることを示唆している。Er:YAG照射後の骨治癒の促進は、レーザー照射面に細胞外マトリックス成分がより多く付着すること、炎症細胞が早期に優位に立つこと、毛細血管がより多く増殖することで説明できる。

Hollingerら(30)は、rhPDGFが歯を支える骨欠損にも直接作用することを証明した。PDGFが大量に分泌されることは、この過程にもっと多くのメカニズムが関与している可能性を示唆する一つの指標である。もしこの理論が正しければ、理想的なレーザーパラメーターを決定するために、さらなる研究が必要であろう。Er:YAGレーザーが、骨再生を促進するPDGFの分泌を介して骨治癒に果たす有望な役割を明らかにすることは、非常に重要である。この仮説を検証するためには、さらなる調査が必要かもしれない。

## 結 論

本結果に基づき、Er:YAGレーザー骨手術は、低レベルレーザー治療類似の効果による骨再生と骨形成という、これらの結果を説明するいくつかのメカニズムを開始する可能性がある。Er:YAGレーザーによる骨手術は、機械的なドリルと比較すると、ウサギの幹細胞に存在する成長因子の量を増加させることによって、骨再生を促進する可能性がある。Er:YAGレーザーは、成熟した移植片まで続くことが知られている自然な骨再生経路を拡大する可能性がある。成熟した移植片まで続くことが知られている。

## ABBREVIATIONS

IGF: insulin like growth factor

PDGF: platelet derived growth factor

PDGFR: platelet derived growth factor receptor

rhPDGF: recombinant human PDGF

TGF- $\beta$ : transformation growth factor beta

## ACKNOWLEDGMENTS

本研究の支援と技術的援助をしてくれたテルアビブ大学サックラー医学部病理学教室のR. Koren教授、および原稿作成に協力してくれたMichael Yunker博士に感謝する。

## REFERENCES

1. Keller U, Hibst R, Mohr W. Experimental animal studies on laser osteotomy using the erbium: YAG laser system [in German]. *Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir.* 1991;15:197-199.
2. Hibst R. Mechanical effects of erbium: YAG laser bone ablation. *Lasers Surg Med.* 1992;12:125-130.
3. Nuss RC, Fabian RL, Sarkar R, Puliafito CA. Infrared laser bone ablation. *Lasers Surg Med.* 1988;8:381-391.
4. Seka W, Fried D, Featherstone JD, Borzillary SF. Light deposition in dental hard tissue and simulated thermal response. *J Dent Res.* 1995;74:1086-1092.
5. Niu W, Eto JN, Kimura Y, Takeda FH, Matsumoto K. A study on microleakage after resin filling of Class V cavities prepared by Er:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg.* 1998;16:227-231.
6. Meister J, Franzen R, Forner K, et al. Influence of the water content in dental enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. *J Biomed Opt.* 2006;11:34030.
7. Wigdor H, Abt E, Ashrafi S, Walsh JT Jr. The effect of lasers on dental hard tissues. *J Am Dent Assoc.* 1993;124:65-70.
8. Nelson DG, Featherstone JD. Preparation, analysis, and characterization of carbonated apatites. *Calcif Tissue Int.* 1982;34(suppl 2):S69-S81.
9. Featherstone JD, Nelson DG. Laser effects on dental hard tissues. *Adv Dent Res.* 1987;1:21-26.
10. Moshonov J, Stabholz A, Leopold Y, Rosenberg I, Stabholz A. Lasers in dentistry. Part B—Interaction with biological tissues and the effect on the soft tissues of the oral cavity, the hard tissues of the tooth and the dental pulp [in Hebrew]. *Refuat Hapeh Vehashinayim.* 2001;18:21-28, 107-108.
11. Keller U, Hibst R. Ablative effect of an Er:YAG laser on enamel and dentin [in German]. *Dtsch Zahnarztl Z.* 1989;44:600-602.
12. Curti M, Rocca JP, Bertrand MF, Nammour S. Morpho-structural aspects of Er:YAG-prepared class V cavities. *J Clin Laser Med Surg.* 2004;22:119-123.
13. Apel C, Meister J, Ioana RS, Franzen R, Hering P, Gutknecht N. The ablation threshold of Er:YAG and Er:YSGG laser radiation in dental enamel. *Lasers Med Sci.* 2002;17:246-252.

14. Peavy GM, Reinisch L, Payne JT, Venugopalan V. Comparison of cortical bone ablations by using infrared laser wavelengths 2.9 to 9.2 micron. *Lasers Surg Med.* 1999;25:421-434.
15. Wang X, Ishizaki NT, Suzuki N, Kimura Y, Matsumoto K. Morphological changes of bovine mandibular bone irradiated by Er,Cr:YSGG laser: an in vitro study. *J Clin Laser Med Surg.* 2002;20:245-250.
16. Pourzarandian A, Watanabe H, Aoki A, et al. Histological and TEM examination of early stages of bone healing after Er:YAG laser irradiation. *Photomed Laser Surg.* 2004;22:342-350.
17. O'Donnell RJ, Deutsch TF, Flotte RJ, et al. Effect of Er:YAG laser holes on osteoinduction in demineralized rat calvarial allografts. *J Orthop Res.* 1996;14:108-113.
18. Fried NM, Fried D. Comparison of Er:YAG and 9.6-microm TEA CO<sub>2</sub> lasers for ablation of skull tissue. *Lasers Surg Med.* 2001;28:335-343.
19. Sasaki KM, Aoki A, Ichinose S, Ishikawa I. Ultrastructural analysis of bone tissue irradiated by Er:YAG Laser. *Lasers Surg Med.* 2002;31:322-332.
20. Buchelt M, Kutschera HP, Katterschafka T, et al. Erb:YAG and Hol:YAG laser osteotomy: the effect of laser ablation on bone healing. *Lasers Surg Med.* 1994;15:373-381.
21. Lewandrowski KU, Lorente C, Schomacker KT, Flotte TJ, Wilkes JW, Deutsch TF. Use of the Er:YAG laser for improved plating in maxillofacial surgery: comparison of bone healing in laser and drill osteotomies. *Lasers Surg Med.* 1996;19:40-45.
22. Sasaki KM, Aoki A, Ichinose S, Yoshino T, Yamada S, Ishikawa I. Scanning electron microscopy and Fourier transformed infrared spectroscopy analysis of bone removal using Er:YAG and CO<sub>2</sub> lasers. *J Periodontol.* 2002;73:643-652.
23. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med.* 1985;5:31-39.
24. Abergel RP, Meeker CA, Lam TS, Dwyer RM, Lesavoy MA, Uitto J. Control of connective tissue metabolism by lasers: recent developments and future prospects. *J Am Acad Dermatol.* 1984;11:1142-1150.
25. Kesler G, Romanos G, Koren R. Use of Er:YAG laser to improve osseointegration of titanium alloy implants—a comparison of bone healing. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006;21:375-379.
26. Pourzarandian A, Watanabe H, Ruwanpura SM, Aoki A, Noguchi K, Ishikawa I. Er:YAG laser irradiation increases prostaglandin E production via the induction of cyclooxygenase-2 mRNA in human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2005;40:182-186.
27. Lubart R, Kesler G, Lavie R, Friedmann H. Er:YAG laser promotes gingival wound repair by photo-dissociating water molecules. *Photomed Laser Surg.* 2005;23:369-372.
28. Hollinger JO, Hart CE, Hirsch SN, Lynch S, Friedlaender GE. Recombinant human platelet-derived growth factor: biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am.* 2008;90(suppl 1):48-54.
29. Nelson JS, Orenstein A, Liaw LH, Berns MW. Mid-infrared erbium:YAG laser ablation of bone: the effect of laser osteotomy on bone healing. *Lasers Surg Med.* 1989;9:362-374.
30. Belal MH, Watanabe H, Ichinose S, Ishikawa I. Effect of Er:YAG laser combined with rhPDGF-BB on attachment of cultured fibroblasts to periodontally involved root surfaces. *J Periodontol.* 2007;78:1329-1341.
31. Burchardt H, Enneking WF. Transplantation of bone. *Surg Clin North Am.* 1978;58:403-427.
32. Clark RA. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. I. *J Am Acad Dermatol.* 1985;13:701-725.
33. Frost A, Jonsson KB, Ridefelt P, Nilsson O, Ljunghall S, Ljunggren O. Thrombin, but not bradykinin, stimulates proliferation in isolated human osteoblasts, via a mechanism not dependent on endogenous prostaglandin formation. *Acta Orthop Scand.* 1999;70:497-503.
34. Bazzoni G, Dejana E, Del Maschio A. Platelet-neutrophil interactions. Possible relevance in the pathogenesis of thrombosis and inflammation. *Haematologica.* 1991;76:491-499.
35. Gentry PA. The mammalian blood platelet: its role in haemostasis, inflammation and tissue repair. *J Comp Pathol.* 1992;107:243-270.
36. Zuo ZJ, Zhu JZ. Study on the microstructures of skull fracture. *Forensic Sci Int.* 1991;50:1-14.
37. Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Miner Res.* 1999;14:1805-1815.
38. Joyce ME, Roberts AB, Sporn MB, Bolander ME. Transforming growth factor-beta and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur. *J Cell Biol.* 1990;110:2195-2207.
39. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85:638-646.
40. Antoniades HN. Human platelet-derived growth factor (PDGF): purification of PDGF-I and PDGF-II and separation of their reduced subunits. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981;78:7314-7317.
41. Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell.* 1986;46:155-169.
42. Bowen-Pope DF, Vogel A, Ross R. Production of platelet-derived growth factor-like molecules and reduced expression of platelet-derived growth factor receptors accompany transformation by a wide spectrum of agents. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984;81:2396-2400.
43. Knighton DR, Oredsson S, Banda M. Regulation of repair: hypoxic control of macrophage mediated angiogenesis. In: Hunt TK, Haepfenstahl RB, Pines E, eds. *Soft Tissue Repair.* New York, NY: Praeger; 1984:41-49.