

超音波照射の生体組織に与える影響の検討

最終目標

低出力超音波照射器を関節軟骨の修復を目的とした変形性顎関節症の全く新しい治療器として臨床応用することを最終目的とする。低出力超音波が関節軟骨細胞および滑膜細胞の代謝活性を亢進するメカニズムを分子生物学的に解明し、低出力超音波の効果に関する科学的根拠を明確にした上で、変形性顎関節症あるいは関節リウマチモデル動物を用いた臨床実験を行い、生体での有効性を確認する。その後、変形性顎関節症患者および関節リウマチ患者を対象とした臨床試験を実施する。

本治療法は、発症率が高く、適切な治療法が未開発である変形性顎関節症に対し、初の顎関節軟骨の修復による根本治療を目的とする低侵襲性治療法であり、当技術の実用化は、最適な照射条件が確定できれば超音波治療器自体の開発や治療法の習得も比較的容易であることから、一般歯科医院での広い普及が期待できる。また、顎関節症予防への適用により普及の拡大も考えられる。

研究成果

1. プタ顎関節軟骨から分離培養した軟骨細胞に対する超音波照射の生物学的影響

プタ顎関節軟骨細胞に対して 30 mW/cm^2 と 150 mW/cm^2 の2種類の出力の超音波を照射した結果、細胞増殖能に大きな影響を与えなかった。また、基質合成能についても、アグリカンおよびII型コラーゲンの遺伝子発現に大きな影響を及ぼさなかった。しかし、出力の比較では 30 mW/cm^2 の超音波照射の方が 150 mW/cm^2 の超音波照射と比較して有意に高い基質合成能を示すことが明らかとなった。そこで、出力 30 mW/cm^2 、発振周波数 3MHz の低出力超音波が顎関節軟骨細胞に対する最適特性と決定し、さらに詳細な生化学的解析を行った。

軟骨表層、肥大層、軟骨深層の3層に由来する細胞を培養し、コンフルエント直前に $3\text{MHz}-30 \text{ mW/cm}^2$ の超音波を照射し、照射直後、1、3、6、12、24時間後の細胞を回収し、細胞外基質発現を解析、非照射対照群と比較を行った。結果として表層からの軟骨細胞では3時間後にアグリカン、I型コラーゲンの遺伝子発現の増加が認められた。さらに、顎関節内の炎症状態を再現し、病的な状態の軟骨細胞に対する超音波照射の影響を検索した。IL-1 添加による刺激を12時間行った後、各層由来の軟骨細胞における基質遺伝子(I型コラーゲン、II型コラーゲンおよびアグリカン)発現はすべて有意な低下を示した。一方、表層由来軟骨細胞において、超音波照射群ではI型コラーゲンの遺伝子発現レベルが対照群と比較して有意に亢進することが明らかとなった。

以上のことから、炎症性サイトカインにより基質産生が低下した表層軟骨細胞に対して低出力超音波を照射することにより、基質産生能が回復することが明らかとなり、変

形性顎関節症における軟骨再生に対する低出力超音波照射の有効性が示唆された。

2. ウサギ滑膜細胞に対する超音波照射の生物学的影響

ウサギ滑膜細胞に対して、IL-1 添加による刺激を 12 時間行った後、3MHz-30 mW/cm² の低出力超音波を照射し、照射直後、1、3、6、12 時間後の細胞を回収し、real-time PCR により COX-2 の遺伝子発現を定量的に計測した。結果として、超音波照射後の滑膜細胞における COX-2 の遺伝子発現は、IL-1 刺激を行わなかった正常な滑膜細胞ではすべての時間において非照射群と比較して大きな差は認められなかった。一方、IL-1 刺激を行うと COX-2 の発現は無刺激の対照群の約 2 倍に増加したが、超音波照射によりすべての時間において COX-2 遺伝子発現は有意に減少した。

以上の結果より、炎症下の関節滑膜細胞に対する低出力超音波照射により、炎症性サイトカイン発現を抑制しうる可能性が示唆された。

参考文献

- Dalla-Bona D, Tanaka E, Oka H, Yamano E, Kawai N, Miyauchi M, Takata T, Tanne K (2006). Effects of ultrasound on cementoblast metabolism *in vitro*. *Ultrasound in Medicine and Biology* 32(6):943-948, June.
- Dalla-Bona DA, Tanaka E, Inubushi T, Oka H, Ohta A, Okada H, Miyauchi M, Takata T, Tanne K (2008). Cultured cementoblast stimulation by low- and high- intensity ultrasound. *Archives of Oral Biology* 53(4): 318-323, April.
- Inubushi T, Tanaka E, Rego EB, Kitagawa M, Kawazoe A, Ohta A, Okada H, Koolstra JH, Miyauchi M, Takata T, Tanne K (2008). Effects of ultrasound on the proliferation and differentiation of cementoblast lineage cells. *Journal of Periodontology* 79(10):1984-1990, Oct.