各種レーザーの骨芽細胞及び象牙芽細胞に及ぼす影響 Laser Effect on Osteoblast and Odontoblast

山田恵子

東北大学歯学部小児歯科学講座

〒980-77 仙台市青葉区星陵町4番1号

TEL 022-717-8382 FAX 022-717-8386

Keiko YAMADA

Dept. of Pediatric Dentistry, Tohoku University School of Dentistry,

4-1, Seiryomachi, Aobaku Sendai Miyagi 980-77 JAPAN

要 旨

レーザーの臨床応用範囲は広がる傾向にあるが、その生体に及ぼす作用機序についての解明はいまだ憶測の域を脱していない。レーザーが骨や象牙質等の硬組織形成を促進する作用を有することについても、動物実験や臨床応用の結果報告が先行し、そのメカニズムの探究が一步遅れている感がある。そこでレーザーの骨芽細胞、象牙芽細胞に及ぼす作用について著者の実験結果と、関連するこれまでの報告から考察を加えた。その結果、①ソフトレーザーは適当な照射条件を用いることにより、骨芽細胞の増殖を促進し、かつ硬組織形成を助長する、②高出力レーザーは象牙質細胞を賦活化して二次象牙質の形成を促進し、かつ未分化細胞から象牙芽細胞への分化をも促進し新生象牙質の形成に寄与することが推察された。

キーワード：レーザー、骨芽細胞、象牙芽細胞

Abstract

The application of laser is increasing in Medicine and dentistry, however, the biological effect of laser is not made clear yet. The effect of laser on acceleration of hard tissue formation was demonstrated with animal experiments and clinical researchs, but the fundamental research relating to the mechanism is still unclear. In the present paper, the biological effect of laser to osteoblasts as well as to odontoblasts is considered from author's research and other reports. The conclusions are as follows. (1) Soft laser accelerates a proliferation as well as a hard tissue formation of osteoblastic cells. (2) High energy laser activates odontoblasts to form secondary dentin and enhance differentiation of indifferent cells to odontoblasts.

Key words : Laser, Osteoblast, Odontoblast

はじめに

医歯学領域におけるレーザーの応用は、病態診断、外科的治療、疾病予防等あらゆる用途に普及してきており、さらにその範囲は広がる傾向にある。レーザー光の生体への作用は、1) 熱、2) 圧力、3) 光、4) 電磁界の4つがあると考えられており、これらの中でも熱及び圧力は高出力レーザーが、また光、電磁界は低出力レーザーがそれぞれ効果的であると言われている。即ち、高出力レーザーは熱により組織を燃焼したり、変性を生じせしめることより外科的処置に用いられる事が多い。一方、低出力レーザーについてはその生物学的作用機序がまだ十分に解明されているとは言えないが、すでに臨床応用が先行して行われ、その結果により次に挙げるような生体に対する作用があると推測されている。即ち、1) 血流の改善、促進、2) 酸素活性の促進、3) 細胞分裂の活発化、4) 神経興奮性の抑制、5) 血管新生の促進、6) 生体産生物質の産生促進等である¹⁾。これらの作用機序をさらに詳細に解明するためには、レーザー照射された細胞の機能の変化について検索する必要がある。

これまで株化培養細胞に対するレーザーの影響については、線維芽細胞、骨芽細胞、滑膜細胞がその材料として用いられ、各種レーザー照射によるそれらの細胞の形態、増殖能の変化が調べられ報告されている。

ところで歯科領域では歯の石灰化を促進させる方法は臨床的にも有用であり、その確実な手段の開発が待たれるところである。そこで著者は、レーザーの象牙芽細胞にたいする作用をin vitro, in vivoの実験により明らかにしたいと考えた。しかし、象牙芽細胞の株化培養は現代では不可能であることにより、石灰化と同様の機能を持ち、しかも株化培養法が確立されている骨芽細胞をin vitro研究の材料とし、またin vivoではラットの臼歯を用いて実験を行ったところ、若干の知見を得た^{2), 3)}。そこでその結果とこれまでの関連する報告からレーザーの骨芽細胞、象牙芽細胞への作用について考察を加えてみたい。

1. レーザーの骨芽細胞に対する生物学的作用

マウスの頭蓋冠由来の株化骨芽細胞(MC 3 T 3 -E 1)を実験材料として次の項目について調べた。

1) レーザーの細胞増殖に対する影響

〈方法〉

α -MEM培地(10%ウシ胎児血清、1%ペニシリン-ストレプトマイシン-ファンギゾン、5 mM β -glycero-

表1 培養日数と細胞数平均値

Days	Control	3min.Lased	5min.Lased
1	8.5 (0.7)	8.6 (0.4)	7.8 (0.8)
2	21.3 (2.1)	18.0 (2.2)	17.7 (1.9)
3	27.7 (3.6)	31.3 (2.7)	26.9 (4.4)
4	59.0 (5.7)	64.7 (1.3)	63.3 (9.8)
5	76.7 (9.9)	70.0 (6.5)	70.7 (4.2)
6	113.3 (26.2)	103.0 (21.3)	106.3 (12.0)

(S.D)

図1 培養日数による細胞数の変化

phosphateを含む) 1.8 ml 入りのplastic dish (ϕ 35 mm) にMC 3 T 3 -E 1 を 5×10^4 個播種して、37°Cのincubator (5% CO₂) 内で2~3時間培養後、細胞がdishの底面に付着したのを確認後dishの底面方向よりHe-Neレーザー(World Wide社製、波長632.8nm、出力6 mW)を3分間あるいは5分間照射した。その後各dishを3個ずつincubatorより取り出して培地除去及び、PBS洗浄した後0.1%trypsin処理して遠心分離にかけ、血球数測定板を用いて顕微鏡下で細胞数を測定した。同様の測定を6日間繰り返して細胞増殖曲線を得た。培地は3日間毎に新鮮培地と交換した。なお、対照は同様にplastic dishに細胞を播種して、レーザーを照射せずに培養し24時間毎に細胞数を測定した。

〈結果及び考察〉

培養時間に対する細胞数の変化を表1、細胞数の常用対数の変化を図1に示す。He-Neレーザーを照射した細胞では、いずれの照射時間においても非照射細胞との間にその増殖の様相に顕著な差がみられず、今回用いた

表2 骨芽細胞に及ぼすレーザーの作用

発表年	筆頭著者	細胞の種類	レーザー機種(波長)	出力(エネルギー密度)	照射条件	作 用
1991	K.YAMADA	MC3T3-E1	He-Ne (632.8nm)	6mW(0.01~1.0J/cm ²)	播種2日後 " 6日後 1日1回照射 " 1日1回4日連続	増殖促進(+) " (-) 石灰化促進(±) ALP活性(-) 石灰化促進(+) ALP活性(+)
1992	高木茂樹	MC3T3-E1	Ga-Hs半導体(904nm)	2mW(0.03J/cm ²)	播種1日後1日3回F " 1, 2, 4, 5回 A, B, C, D, E, G	増殖促進(+) 増殖促進(±)
1995	山田恵子	MC3T3-E1	He-Ne(632.8nm)	6mW(0.114, 0.187J/cm ²)	播種2時間後1回照射	増殖促進(±) 石灰化促進(+)
1996	鈴木浩之	HU09 YT48 09N2	半導体(890nm)	0.336mW(0.6~9.0J/cm ²)		増殖促進(-) ALP活性(-)

レーザーの照射条件(総出力1080mJ, 1800mJ)では、細胞の増殖能に影響を及ぼさないことが明らかになった。YAMADA⁴⁾はやはりMC3T3-E1にHe-Neレーザーを照射してその増殖能の変化をみているが、その結果、細胞の播種培養を開始して2日後即ち細胞が成長期にある時にレーザーを照射(0.01-1.0J/cm²)すると、細胞増殖は顕著に促進されるが、培養開始6日後即ち安定期の細胞にレーザーを照射してもその増殖能に変化はみられなかったと報告した。著者の実験では細胞を播種して2時間後細胞がdishの底面に付着して突起を伸ばし始めた時点でレーザーを照射したが、単位面積当りの細胞数が少ないために、細胞1個当りの照射エネルギーが非常に低かった可能性が考えられる。高木ら⁶⁾は、やはりMC3T3-E1を被照射材料としてガリウム・ヒ素半導体レーザー(波長904nm, SEDATELEC社製)を種々のパルスモードで照射(エネルギー密度0.03J/cm²)してその効果をみたところ、Fモードで1日4分間3回照射に於いて細胞増殖能が他に比して有意に促進された。ガリウム・ヒ素半導体レーザーはパルス変調が可能であり、その周波数によってA~Gの7種類の発振モードの使用ができる。Fモードは47.5Hzで骨疾患に有効とされているが、この研究から当レーザーは直接骨芽細胞に作用してその増殖能を促すことにより、骨を新生せしめることが推察された。しかし、この研究に用いた照射エネルギー密度(0.03J/cm²)が先のYAMADA⁴⁾の用いたそれと一致しているにもかかわらずFモード以外の周波数では、増加傾向はみとめたが、有意な差はなかったことに対して、高木⁶⁾はレーザーの細胞に対する

作用はエネルギー密度のみではなく、その周波数も重要な因子になっていることを示唆した。鈴木ら⁵⁾はヒト由来の3種の骨芽細胞に半導体レーザー(波長890nm, 浜松ホトニクス社製)を0.6~9mJ/cm²のrangeで照射しDNA合成能の変化を調べたところ、明らかにDNA合成が促進されたものはなく、むしろ阻害される傾向が認められたと報告した。しかし、鈴木らの用いた半導体レーザーはその出力が0.336mWと他のソフトレーザーに比して、非常に低く、その影響も無視できないと思われる。

骨芽細胞に対するレーザーの生物学的作用についてのこれまでの報告を表2にまとめた。使用されたレーザーは、波長632.8~904nm, 出力0.336mW~6mW, エネルギー密度0.01~9J/cm²でいずれも低出力レーザーが用いられている。また、細胞の増殖能に関するレーザーの影響については①促進した(YAMADA⁴⁾, 高木ら⁶⁾), ②抑制した(鈴木ら⁵⁾), ③非照射と同じ(YAMADA²⁾)と、それぞれ異なる結果を得ているが、マウスの骨芽細胞の増殖を促進させる必要条件として挙げるならば、細胞の成長期にエネルギー密度0.01~1.0J/cm²が適当であると言える。しかし、ヒトの骨膜由来細胞では逆に増殖が抑制される傾向がみとめられたことから、細胞種によりその反応性が異なることも推察される。他の細胞を用いてレーザーの細胞増殖に関する影響を調べたものとして、RA滑膜培養細胞(山田ら⁷⁾), 線維芽細胞(J. Rigau et al⁸⁾)等があるが、いずれもHe-Neレーザーを照射したところ、増殖は抑制されたとしている。いずれにしても低出力レーザーが

表3 培養期間と沈着カルシウム量 ($\mu\text{g}/\text{dish}$)

	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks
Control	7.6 (0.93)	11.6 (0.22)	12.2 (0.21)	15.6 (0.85)
3 min. Lased	8.2 (1.22)	11.6 (0.36)	13.1 (2.08)	18.2 (1.31)
5 min. Lased	14.5 (0.14)	14.6 (1.11)	15.2 (0.90)	21.9 (0.46)

Mean Value (S.D.)
*: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$

図2 培養期間と沈着カルシウム量 ($\mu\text{g}/\text{dish}$)

細胞に直接作用し、その増殖能に影響を与えることは明らかであると言えるが、照射条件や細胞周期その他の因子でその影響は微妙に異なり、結果的に全く逆の所見が得られている。しかし、低出力レーザーにより、骨芽細胞の増殖を促進することが可能であることが示された。

2) レーザーの硬組織形成に対する影響

〈方法〉

1) の実験と同様に播種し、レーザー照射したMC3T3-E1をincubator内にて培養し、照射1週後、2週後、3週後、4週後の細胞内外に沈着したカルシウム量を原子吸光光度計にて測定した。なお、対照はレーザー照射を除いて全て実験群と同様の処理を行った。

〈結果及び考察〉

各週毎の沈着カルシウム量を表3、図2に示した。5分間照射(総出力エネルギー1800mJ)細胞に沈着したカルシウム量は、いずれの週においても対照群よりも有意に高い値を示した。

レーザー照射による骨芽細胞の硬組織形成能に対する影響については、YAMADA⁴⁾も1日1回ずつ4日間連続で、エネルギー密度1.0J/cm²のHe-Neレーザーを照射した細胞でカルシウム沈着が有意に促進され、同時にALP活性も上昇していたと報告した。一方、鈴木ら⁵⁾はヒト骨肉腫由来細胞に半導体レーザーを10分以上照射すると、ALP活性はむしろ抑制されたとしている。

る。しかし、同時に増殖も抑制されており、1細胞の硬組織形成能への影響は推測できない。著者らの実験結果では、非照射細胞と細胞数は変わらないが、照射細胞のカルシウム沈着量が有意に増加したことは細胞の機能の分化にレーザーが直接作用したことを示すものであると考える。Rigau⁸⁾、Lam⁹⁾はヒトの線維芽細胞にHe-Neレーザー、Ga-Asレーザーを照射すると、細胞の増殖は促進されないが、コラーゲンの新生が促進されることを報告した。この報告もレーザーが細胞の機能を賦活化したことを裏付けるものと考えられる。

3) レーザーの細胞内カルシウムイオン濃度を与える影響について

〈方法〉

径25mmのplastic dishに滅菌ガラス板を置きその上からMC3T3-E1を 5×10^4 個播種して2時間、4日、1週間培養後に培地を除去、PBSで洗浄した後10 μM Fura-2 AM、0.1%アルブミンを含む5 mM KCl Hepes溶液を加えて1時間、incubatorに放置後、再び取り出して細胞内カルシウムイオン測定装置のキューベットにガラス板を設定して2 mlの5 mM KCl Hepes溶液をキューベット内に満たした。base lineとしてこのままの状態です340nm、380nmの蛍光強度比を3分間測定した後、レーザー(He-Neレーザー、Ga-Al-Asレーザー)をそれぞれ3分間あるいは5分間照射し、その直後再び測定し、レーザーによる細胞内カルシウムイオン濃度の変化を算出した。

〈結果及び考察〉

表4にそれぞれの照射条件における照射前後の蛍光強度及び変化量(照射前後の蛍光強度比の差/照射前の蛍光強度比)を示した。5分間照射群においてはHe-Neレーザーのほうが細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させる傾向を示したが、10分間照射群では両レーザーとも同様の上昇量を示した。また、レーザー照射の時期については播種4日、1週間後で高い変化量を示した。即ち、低出力レーザーは細胞内のカルシウムイオン濃度を高める作用があることが示唆された。

細胞内カルシウムが硬組織形成細胞で果たす役割とし

表4 骨芽細胞内カルシウムイオンの変化

Culture Duration	He-Ne Laser		Ga-Al-As Laser	
	5 minutes	10 minutes	5 minutes	10 minutes
2 hours before irradiation	0.48 (0.005)	0.46 (0.014)	0.47 (0.009)	0.49 (0.016)
after irradiation	0.57 (0.024)	0.53 (0.022)	0.52 (0.016)	0.55 (0.017)
ratio	0.19	0.15	0.11	0.12
4 days before irradiation	0.61 (0.017)	0.62 (0.005)	0.67 (0.010)	0.63 (0.015)
after irradiation	0.71 (0.034)	0.74 (0.005)	0.73 (0.050)	0.76 (0.005)
ratio	0.16	0.19	0.09	0.20
7 days before irradiation	0.64 (0.033)	0.61 (0.015)	0.66 (0.005)	0.61 (0.015)
after irradiation	0.73 (0.014)	0.73 (0.005)	0.72 (0.012)	0.74 (0.010)
ratio	0.14	0.19	0.09	0.21

N=3, Mean (S.D.)

図3 Nd:YAGレーザー (10J) 照射 3日後の歯髄 (HE染色、100倍)

○領域に細胞配列の乱れがみられる

図4 Nd:YAGレーザー (10J) 照射 2週後の歯髄 (HE染色、100倍)

○領域に二次象牙質形成

て基質の石灰化と細胞内情報伝達を担うシグナルとしての2つが考えられている。骨芽細胞のカルシウムチャンネルはPTHなどのホルモンによりその存在が報告されている。当実験ではレーザー照射が骨芽細胞内のカルシウムイオン濃度を上昇させたが、その作用機序としてはレーザーの刺激により、①カルシウムチャンネルが開き細胞外からカルシウムイオンが入りこんだ、②小胞体に蓄えられていたカルシウムイオンが細胞内に放出された等が推測される。いずれにしてもレーザーが細胞内カルシウムイオン濃度に変化をもたらし、石灰化の機能が促進される可能性が考えられる。

2. レーザーの象牙質形成促進作用について

大久保ら¹⁰⁾はラットの歯にNd:YAGレーザーを、またNagasawaら¹¹⁾はやはりラットの歯にルビーレーザーを照射したところ、歯髄内に著しい二次象牙質の形成を認めたと報告して以来レーザーの象牙芽細胞に対す

る生物学的作用に関する関心が高まった。前述した通り象牙芽細胞の株化は確立されていないために、in vitroの実験としては歯胚を組織培養してレーザーを照射する系が、またin vivoでは動物の歯にレーザーを照射し歯髄の変化を顕微鏡的に観察したものがこれまで報告されている。著者らはラットの臼歯を用いてHe-Neレーザー、Nd:YAGレーザーの歯髄に与える影響を観察した。

〈方法〉

4週齢のWister系ラットの上顎臼歯を被験歯とした。ネブタールによる注入麻酔下で被験歯の咬頭を削除して残存象牙質の厚さを可及的に薄くして2種類のレーザーを次の条件にて照射した後、3日、1、2週後の歯髄を光学顕微鏡下で観察した。

〈照射条件〉

①He-Neレーザー (波長632.8nm, 出力6mW) を5分間照射

表5 レーザーの歯髄に及ぼす影響

発表年	筆頭著者	実験動物	レーザー機種 (波 長)	出力(エネルギー密度)	影 響
1982	大久保勉	ラット	音波Qスイッチ Nd:YAG (1064nm)	10W (32~96J/cm ²)	全ての照射部に二次象牙質形成 重度の歯髄傷害あり (96J/cm ²)
1984	A.NAGASAWA	ラット	Ar (488nm)	2.5, 7.5, 10J	1ヶ月~3ヶ月後に二次象牙質形成
1987	中村幸生	ラット	連続波 Nd:YAG (1064nm)	10W (31~52J/cm ²)	象牙芽細胞が新生, 二次象牙質形成
1987	J.MELCER	ニホンザル	CO ₂ (10.6 μm)	10 ³ ~25×10 ³ J/cm ²	象牙質にあるいは歯髄に直接照射しても象牙質形成 9×10 ³ J/cm ² を歯髄に照射すると不可逆的壊死
1990	王紅虹	イヌ	連続波 Nd:YAG (1064nm)	1.5, 10W(114~229J/cm ²)	1W, 5Wで二次象牙質形成
1992	海老原新	イヌ	連続波 Nd:YAG (1064nm)	305~1524J/cm ²	断髄面に照射すると歯髄細胞の増殖, 分化促進 dentin bridge 形成

②連続波Nd:YAGレーザーを5J(5W, 1秒間)あるいは10J(10W, 1秒間)照射

〈結果及び考察〉

①He-Neレーザー: レーザー照射部直下の歯髄を観察したところ, 照射3日, 1週, 2週後のいずれにおいても非照射歯髄細胞と比して違いが認められず, 歯髄の石灰化もみとめなかった。

②連続波Nd:YAGレーザー: 5J照射群の歯髄はいずれの観察時期においても対照と特に異なる所見は認めなかったが, 10J照射歯髄では3日後に象牙芽細胞の配列の乱れや細胞浸潤がみられ(図3), さらに2週間後では二次象牙質が形成されているものもあった(図4)。

レーザーの歯髄への影響についての近年の研究を表5にまとめた。大久保ら¹⁰⁾はラットの臼歯の齶蝕抑制の目的で超音波QスイッチNd:YAGレーザーを照射して200日間の歯髄の経過を観察した結果, 照射歯の全てに二次象牙質が形成され, とくに96J/cm²のエネルギーでは根部歯髄にまで石灰化を呈しているものがあったと報告した。Nagasawaら¹¹⁾はラットの臼歯にアルゴンレーザーを照射したところ3J照射歯では3ヶ月以内に, 10J照射歯では1ヶ月で冠部及び根部歯髄が二次象牙質で満たされたと述べている。さらに中村¹²⁾はラットの歯に, 海老原¹³⁾, 王¹⁴⁾はイヌの歯に連続波Nd:YAGレーザーを照射して歯髄の反応を観察しているが, いずれも照射直後には象牙芽細胞に軽度の傷害をみとめたが, 時間の経過と共に治癒し, その後象牙芽細胞が新生, 増殖して多量の二次象牙質形成がなされたと述べた。一方, Melcer¹⁵⁾はサルとイヌの象牙質と歯髄にCO₂レーザーを照射したところ, 象牙芽細胞の治癒と新たな細胞の出現による象牙質の形成がみられたと報告した。

上述の報告では, 二次象牙質形成を促進するレーザー

の機種はアルゴンレーザー, Nd:YAGレーザー(超音波Qスイッチ, 連続波), CO₂レーザーと高出力レーザーが用いられていた。著者はラットの象牙質にHe-Neレーザーを照射したが, 歯髄への影響は認めなかった。しかし, 直接露出歯髄へ適用して象牙質の形成を促す目的で用いるレーザーの機種としては, He-Neレーザーも有効と思われる。また, 実験動物や照射部位はそれぞれの報告によって異なり, 用いられたエネルギー密度も多岐にわたっていることから, 象牙質形成を促す適当な照射エネルギー密度を設定することは困難である。

ここで, レーザーは象牙芽細胞にどのような作用をして象牙質形成を促進させるのかについて推論してみると次の2つが挙げられる。

①エナメル質あるいは象牙質にある程度の高出力レーザーを照射すると, その熱により象牙細管中の組織液の蒸散やイオン交換システムの変化等が生じることにより象牙芽細胞に刺激の情報が伝達されて, その刺激に対する防御目的で細胞が賦活化されて二次象牙質の形成が促進される。

②歯髄に近接した象牙質あるいは歯髄に直接強いエネルギーのレーザーが照射されると, その熱により象牙芽細胞は一部損傷されるがレーザーの殺菌作用により感染等の二次的な侵襲も予防されることにより, 生活力が旺盛な歯であれば治癒機転が生じ, 周囲の多量の線維芽細胞や未分化細胞から象牙芽細胞が分化し, 新生象牙質(dentin bridge)を形成する。

一般にヒトの二次象牙質は, 齶蝕, 咬合力等による長期にわたる持続的な弱い刺激により形成されると言われているが, 高出力レーザーはその刺激量がかなりと大きいと思われる。しかし, その刺激は一過性の極めて短い時間であるために, 象牙芽細胞は不可逆的な変性をする

ことなく、むしろ賦活されるだろうと思われる。

おわりに

レーザーの骨芽細胞、象牙芽細胞に対する作用について、著者の研究結果とこれまでの関連報告を紹介し考察を加えてみたところ、次の様にまとめることができる。

1. 骨芽細胞を賦活化するにはソフトレーザーが有効であるが、なかでも適当な照射条件下でのHe-Neレーザーは細胞の増殖能の促進、硬組織形成促進に適した機種であると思われた。

2. 象牙芽細胞を賦活化して象牙質の形成を促進する目的に適用するレーザーは、高出力レーザーが有効であると思われるが、歯髄に直接照射して新生象牙質を形成させるにはソフトレーザーの使用も推奨される。

臨床的には、骨折部位の治癒を促進するためのレーザー照射はすでに報告されており、その良好な成績をあげている。また、象牙質の形成についても断髄面へのレーザー照射、齶蝕下の二次象牙質の形成促進による間接覆髄法等到大いに応用価値があると思われる。今後、良好な臨床成績の報告が数多くなされ、レーザーが歯科臨床の場にさらに活躍することを期待するものである。

文 献

- 1) 森岡俊夫編, レーザー歯学, 193, 医歯薬出版, 1986.
- 2) Keiko YAMADA, Kikuo KAMIYAMA et al. : He-Ne Laser Effect on Hard Tissue Formation in Osteoblastic Cells : 日本レーザー歯学会誌 5:35-40, 1994.
- 3) 神山紀久男: レーザーによる歯髄細胞賦活化と象牙質形成促進について, 文部省科研費報告書, 1994.
- 4) Kunio YAMADA : Biological Effect of Low Power Laser Irradiation on Clonal Osteoblastic Cells (MC 3 T 3 -E 1), 日整会誌 65 : 787-799, 1991.
- 5) 鈴木浩之, 田中英俊, 橋本賢二: 培養骨芽細胞に対する半導体レーザー照射の影響に関する実験的研究, 日本レーザー歯学会誌 5 : 41-46, 1994.
- 6) 高木茂樹, 中川敏浩, 藤山正之, 山本茂久: ソフトレーザーの効果に関する基礎的研究, 日本レーザー医学会誌 : 13, 21-26, 1992.
- 7) 山田邦男 他: 低出力レーザー照射がRA滑膜培養細胞のDNA合成能に及ぼす影響, 日本レーザー歯学会誌, 4 : 3-10, 1990.
- 8) J. Rigau, M. A. Trellas, R. G. Colderhead and E. Mayayo : Changes in Fibroblast proliferation and Metabolism following in vitro Helium-Neon Laser Irradiation: Laser Therapy 3:25-33, 1991.
- 9) Thomas S. Lam, et al. : Laser Stimulation of Collagen Synthesis in Human Skin Fibroblast Cultures, Lasers in the Life Science 1 : 61-77, 1986.
- 10) 大久保勉, 山本肇: レーザー照射による齶蝕抑制の実験的研究, 東北歯誌 1:19-25, 1982.
- 11) Akinori NAGASAWA : Experimental Study on the Histological Changes in Pulp of Rat with Exposure to Argon Laser, 日本レーザー医学会誌, 4 : 269-270, 1984.
- 12) 中村幸生: 連続波Nd: YAGレーザー照射によるラット生活歯髄の病理組織学的変化, 口腔病理誌, 54 : 81-97, 1987.
- 13) 海老原新, 関根義朗, 武田敦志, 須田英明: Nd : YAG レーザーの直接覆髄法への応用に関する研究, 日歯保誌, 35 : 876-886, 1992.
- 14) 王紅虹: イヌ前歯象牙質窩洞へのNd : YAGレーザー照射による歯髄の病理組織学的変化について, 日歯保誌, 33 : 1643-1658, 1990.
- 15) J. Melcer, M. T. Chaumette and F. Melcer : Dental Pulp Exposed to the CO₂ Laser Beam, Lasers in Surgery and Medicine 7 : 347-352, 1987.