

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09612

研究課題名(和文) 光学特性の「生物学的窓」を利用したレーザーの抗菌光線力学歯周療法の開発

研究課題名(英文) Development of anti-microbial antibacterial photodynamic periodontal therapy utilizing the "biological window" of optical properties

研究代表者

福田 光男 (Fukuda, Mitsuo)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：40156790

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：レーザーとインドシアニンググリーンナノ粒子を使った抗菌光線力学療法を開発し、試験研究を行った。SPT期の歯周病患者40名を実験群とコントロール群に無作為にわけ、ポケット内細菌のコントロールが基礎研究で得られた条件で可能かを検討した。認定臨床研究審査会の審査を経て、臨床研究を実施した。結果歯周ポケット外からのレーザー照射で、ポケット内細菌の除去は可能であった。疼痛の発生はなく、安全性の確認ができた。レーザーの照射条件については、レーザーの照射時間を3分から、5分に延長することが必要ことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周治療におけるSPTのメンテナンス治療では、従来スケーラーなどによるポケット内清掃が主体であった。これを生体に刺激少ないレーザーと光感受性物質を使った新しい治療法を開発している。この方法は生体に対して、痛みなどの不快症状がないため、繰り返し行う処置として臨床的意義がある。

研究成果の概要(英文)：An antibacterial photodynamic therapy using a laser and indocyanine green nanoparticles was developed and tested. Forty patients with periodontal disease in the SPT stage were randomly divided into an experimental and a control group, and it was examined whether control of bacteria in the pocket was possible under the conditions obtained in the basic research. The clinical study was conducted after being reviewed by the certified clinical research review board. Results Bacteria in the pocket could be removed by laser irradiation from outside the periodontal pocket. There was no pain and the safety was confirmed. Regarding the laser irradiation conditions, it was found that it was necessary to extend the laser irradiation time from 3 minutes to 5 minutes.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周病 レーザー治療 光線力学療法

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

スケーリング・ルートプレーニング (SRP) は、歯周ポケット内細菌を排除するための基本的となる処置法である。この SRP はメンテナンスで繰り返し行われている。しかし、このスケーラーを使用した SRP は、盲目的操作となるため技術的困難さを伴い、さらに、スケーラーを用いた SRP では、ポケット内壁が傷つけられ、一過性の菌血症を生じている (Kinane 2005)。スケーラーという金属製の器具を歯周ポケット内に挿入して操作する限り、上記の欠点を補うことができない。すなわち、動的治療後に長期に亘り繰り返し行われる SRP では、スケーラーによる器具操作をしない非観血的な、新しい発想のポケット内細菌除去法の開発が必要とされている。それが可能であれば、菌血症を起こすリスクはほとんどなくなり、心血管系、糖尿病などの疾患を抱える患者へもリスクの少なく超高齢社会の現在理想的な治療法となる。

こうした背景をもとに、近年レーザーの歯周治療への応用が報告されてきている。「生体の分光学的窓」と呼ばれる 700-1000nm の波長では、ヘモグロビンや水の吸収率は低く、光は生体を透過しやすいことが知られている。この生体組織を透過するという光学特性を利用すれば、歯周ポケット内にレーザーファイバーを挿入せず、ポケット外からの照射でポケット内殺菌ができるという安全性に配慮した利点が考えられる。

これまで申請者らは、この光学的特徴を利用した光感受性物質 (インドシアニングリーン: ICG) と波長 810nm の半導体レーザーを用いた抗菌光線力学療法をポケット内細菌の排除に応用すべく研究してきた。ICG を、ポリ乳酸グリコールを基材としたナノ粒子 (ICG ナノ粒子; 直径 500nm) に封入し、細菌に付着しやすいようキトサンコーティングした。キトサンはプラスに帯電し、細菌表面に付着しやすくなるという利点がある。このように加工した ICG ナノ粒子に対して、波長 810nm のレーザーを照射すると一重項酸素が発生し、細菌が殺菌される。申請者らは、代表的歯周病原細菌である *P. gingivalis* に対し、出力 0.5W, duty cycle 10%, パルス幅 100ms, 3 分の照射で、99% の殺菌ができることを示した。さらに、歯肉上皮細胞を用いて上皮細胞への影響を検討した。その結果、この条件の光線力学療法では、IL-6, -8 などのサイトカインの産生を抑制し、接着分子 (ICAM-1) を増殖させ、歯周組織の炎症を抑制すること、さらに本波長のレーザーは、上皮の成長を促進し傷の修復を早めるなどの利点があることを確認した。また、*in vitro* の基礎実験では、波長 810nm のレーザーが、ヘモグロビンやミオグロビンを含む生体組織を透過し、殺菌しうることを確認している。

### 2. 研究の目的

歯周病の原因となる歯周ポケット内細菌を、半導体レーザー (810nm) と光感受性物質 (インドシアニンググリーン; ICG ナノ粒子) を組み合わせた抗菌光線力学歯周療法で、殺菌できるかを、歯周病患者のメンテナンス期 (SPT 期) の患者に残存した歯周ポケットを対象として検討する。

基礎研究で得られた照射条件で、臨床でも同様の抗菌作用がえられるかを検討する。  
本方法の安全性について検討する。

### 3. 研究の方法

本研究は、特定臨床研究にあたるため、名古屋市立大学臨床研究審査委員会 (CRB4200003) の審査を受け、臨床研究実施計画番号: jRCTs041200061 をうけた。委員会の指摘により、パイロット研究として、SPT 期の歯周ポケット内細菌の基本統計量を調べる補足的検討をすることとなった。

SPT 期の歯周病患者の被検者 40 名をコントロール群、実験群に無作為に分け単盲検で実施した。

実験群では、ICG ナノ粒子を残存歯周ポケット内に注入後、半導体レーザー (波長 810nm) を 2W, duty cycle 50% 60 秒照射 10 秒休止を 3 回繰り返した。コントロール群では、被験者の代わりに PBS を注入した。照射前、照射直後、照射 1 週間後に歯周ポケット内プラークを採取し、生菌数を、また術前、術後 1 週目について、PCR による細菌分析を行った。

### 4. 研究成果

SPT 期の残存した歯周ポケット (ポケット 5mm 以上の単根歯): 歯周病患者 40 名 (38 歳 ~ 85 歳: 平均 66 歳) 男性 21 名 女性 19 名 コントロール群: 20 名 (平均 66.4 歳: 38 歳 ~ 85 歳) 男性 10 名、女性 10 名 研究薬投与群 (以下実験群とする): 20 名 (平均 65.8 歳 38 歳 ~ 84 歳) 男性 11 名、女性 9 名、同意を得たのは 50 名であり、うち 2 名は、SPT 中に糖尿病が発症し、Covid19 のためキャンセルしたものの 3 名、3 名は急性歯周組織感染のため抗生物質服用のため 3 名が脱落となり、ドロップアウトした。1 名は不同意であった。

主要評価項目である、術前・術直後の生菌数の変化に関して、正規性検定の結果、正規分

布しなかったため、ノンパラメトリック検定 (Wilcoxon U) で、実験群の術前術直後の生菌数について検定した結果、有意な減少が認められたが、コントロール群では有意な差は認められなかった。

実験群とコントロール群での群間比較において、術前・術直後の比較では、有意差が認められた ( $P < 0.004$ ) (Mann-Whney-U)。術前と術後 1 週目においては、有意な差は認められなかった。レッドコンプレックスにおいても、術前・術後 1 週目において、群間において有意な差は認められなかった。

生菌数の減少率 (改善率) を、術前に対して術後の菌数減少率について、閾値 50%、10%、1% で二乗けていた。閾値 50%、10% では、有意な差が認められたが、1% では、有意な差が認められなかった。

PCR による照射後 1 週間目の細菌叢に、有意な変化は認められなかった。

以上のことから、

歯肉を透過したレーザー光による抗菌光線力学療法による歯周ポケット内細菌の殺菌は可能である。

基礎研究で得られたレベルの殺菌能は認められず、照射条件の見直しが必要であることが判明した。

レーザー照射中、照射後 1 週間において、疼痛、歯肉粘膜の熱傷などの不fast事項などは認められず、安全性が確認された。

試験研究の結果から、本研究では、照射条件を、総レーザー照射エネルギーを 1.5 倍程度が必要とされると結論付けられた。すなわち、2 W、duty cycle 50% 60 秒照射 10 秒休止を 3 回繰り返してから、5 回繰り返しが適当と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 樋口 直也, 佐々木 康行, 稲本 京子, 林 潤一郎, 三谷 章雄, 福田 光男, 中田 和彦
2. 発表標題 インドシアニングリーン封入ナノ粒子と半導体レーザーを用いた抗菌光線力学療法のEnterococcus faecalisに対する殺菌効果と歯根の温度変化
3. 学会等名 日本歯科保存学会149回学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 樋口 直也, 佐々木 康行, 林 潤一郎, 三谷 章雄, 福田 光男, 中田 和彦
2. 発表標題 インドシアニングリーン封入ナノ粒子と半導体レーザーを用いた抗菌光線力学療法aPDTによるEnterococcus faecalisに対する殺菌効果
3. 学会等名 日本歯科保存学会148回学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 樋口直也、佐々木康行、藤田将典、林 潤一郎、三谷章雄、福田光男、中田和彦
2. 発表標題 インドシアニングリーン封入ナノ粒子と半導体レーザーを用いた抗菌光線力学療法のEnterococcus faecalis 2に対する殺菌効果と歯根の温度変化
3. 学会等名 日本歯科保存学会150回学術大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	林 潤一郎  (Hayashi Jun-ichiro)  (30350937)	愛知学院大学・歯学部・准教授    (33902)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤村 岳樹  (Fujimura Takeki)  (40749892)	愛知学院大学・歯学部・招聘教員    (33902)	
研究分担者	岩村 侑樹  (Iwamura Yuki)  (90783035)	愛知学院大学・歯学部・歯学部研究員    (33902)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関