

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19066

研究課題名(和文)Er:YAGレーザーを用いた新規骨再生術式における科学的根拠の構築

研究課題名(英文)Establishing the scientific evidence for a novel bone regeneration procedure using the Er:YAG laser.

研究代表者

谷口 陽一(Taniguchi, Yoichi)

東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：30648093

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):本研究は新型コロナウイルス感染拡大下の元実行され、当初より大幅な研究計画の遅れが認められた。そのため、エネルギー分散型分析装置(元素分析)などの特殊機器を使用することが難しい状況下にもあり、部分的に研究内容の変更を余儀なくされた。研究成果としては、現状行われているレーザーを用いた新規骨再生術式の骨移植材料が骨に置換される必要な期間を確定させた。また、Er:YAGレーザーのみではなく、歯科臨床で行われている各レーザーにおいても臨床使用時の適正出力の決定を行い、臨床的に十分な結果を得ている。本研究結果は国内外の学会で発表を行っており、現在症例研究の論文を作成中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究に用いられた術式は従来法の欠点を補う革新的な術式である。その一方で科学的根拠が不足している点もあり、本研究結果はEr:YAGレーザーを骨再生治療に応用するにあたり、新たな基準として使用することができる。また、現状歯科臨床ではEr:YAGレーザー以外にも半導体レーザーや炭酸ガスレーザーが多く使用されているため、本研究では前述の3波長のレーザーを用いた場合の適正照射条件を確定させ臨床的に骨再生を確認している。これにより本術式の汎用性が高まり、さらなる骨再生治療におけるレーザーの有用性が期待できる結果と科学的根拠を得ることができた。

研究成果の概要(英文):The study was carried out under the spread of COVID-19, which resulted in a significant delay in the research plan from the initial stage. This made it difficult to use special equipment such as EDX analysers (elemental analysis), which forced some changes in the research plan. As a result of the research, the necessary period for bone graft material to be replaced by bone in the novel bone regeneration procedure currently being performed using lasers was determined. In addition, the appropriate output power for clinical use was determined not only for the Er:YAG laser but also for each of the lasers used in clinical dental practice, and clinically satisfactory results were obtained.

The results of this research have been presented at domestic and international conferences. A case study article is currently being prepared.

研究分野：歯周病学

キーワード：骨再生 歯周組織再生治療 歯槽堤保存術 歯槽堤増大術 レーザー治療 血餅形成

## 1. 研究開始当初の背景

### 本研究の学術的背景、研究課題の核心をなす学術的「問い」

#### メンブレンを使用する骨再生治療の従来法における問題点

近年、骨再生は歯科臨床において頻回に行われている。特に歯周炎により吸収した歯槽骨の再生は歯の長期予後を良好な状態にし、インプラント周囲骨の再生はインプラント治療の適応範囲を広げるため様々な再生材料および術式が開発されている。再生材料は骨補填材料、メンブレン、タンパク製剤に大別され、現在のコンセンサスでは大幅な骨再生治療を行う上で、顆粒状の骨補填材料の形態を安定させ骨再生のスペースを維持するためのメンブレンは必要不可欠であるとされている。しかし、メンブレンを使用する術式である Guided Tissue Regenerated 法(GTR 法)および Guided Bone Regenerated 法(GBR 法)はメンブレンをボーンタッグや縫合で固定する必要があるため術式が煩雑であり、さらに高度の外科的侵襲による疼痛、腫張等の不快症状を助長する。また、歯肉の薄い部位では創の裂開に伴うメンブレンの露出により、移植材料の細菌感染および感染により惹起される骨吸収が大きな問題となっており、メンブレンの使用は骨再生治療における万能かつ確実な術式とは言い難い。

#### Er:YAG Laser-assisted Bone Regenerative Therapy による骨再生治療

そこで我々はメンブレンを使用せず、骨再生治療を簡便かつ低侵襲に行える術式、Er:YAG Laser-assisted Bone Regenerative Therapy (Er-LBRT)を開発し良好な臨床成績を得た。GTR 法、GBR 法と比較し骨の再生量は同等以上であり、また早期に骨が再生している臨床実感が得られたため、Er-LBRT は後ろ向き臨床研究として論文発表を行った(Taniguchi *et al.*, *Int J Periodontal & Restorative Dentistry*, 2016)。術式は新規性が高く、自家骨以外にも骨補填材料と併用し、GTR 法、GBR 法で用いられるメンブレンの使用に代わり Er:YAG レーザーを用い移植骨表面に血餅を形成することにより、移植骨の形態の維持安定化を図り、骨再生のスペースを確保する方法であり、下図に示す良好な骨再生を安定して行える術式である(図 1)。Er:YAG レーザーは唯一骨面への照射の認可があるレーザー装置であり、炭酸ガスレーザー、Nd:YAG レーザーと比較し骨面の炭化等の為害作用は認められない。

Er-LBRT では血餅形成による移植骨の形態安定効果以上の骨再生が確認されている。しかしながら、どの作用機序で早期かつ十分な骨再生がなされているのか解明されていない。現在まで骨補填材料へのレーザー光による変化を示す基礎研究は発表されていないが、歯科用インプラント等に用いられるチタン材料においては埋入前に紫外線を当てることにより表面の炭素量が減少し骨結合率が増加する報告があり、商品化も行われている(Aita *et al.*, *Acta Biomater.*, 2009)。また Er:YAG レーザーを用いた場合でもチタン表面には同様の炭素の減弱が確認された(Taniguchi *et al.*, *Lasers Med Sci*, 2013)。そこで骨補填材料に関しても、Er:YAG レーザー光は骨移植材料表面を形態的、元素的に変化させタンパク質の吸着および細胞の足場としての役割を増強し骨再生に有利に作用している仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

研究の対象である Er-LBRT は骨再生における独自性の高い術式であり、既存の方法と比較し簡便で結果も良好なため臨床応用が広まってはいる。しかし論文は我々が臨床結果を報告するのみであり、現在まで基礎研究は行われていない。本研究では、レーザー照射後の移植骨の形態的变化、表面元素測定、タンパク吸着能、骨芽細胞活性等、骨再生に関する作用機序を明らかにすることである。また、Er-LBRT の作用機序を解明することにより新たな骨再生の

術式および材料の開発に繋げる展望がある。

### 3. 研究の方法

本研究ではレーザー照射が各骨補填材料および細胞に及ぼす影響を検討し、Er-LBRT による骨再生のメカニズムを明らかにする目的で実験を下記の方法で行う。

**材料:**  $\beta$ -TCP、炭酸アパタイト、非吸収性ウシ骨を使用する。いずれも GBR 法、GTR 法、Er-LBRT で十分な骨再生が確認されている。本研究では臨床応用製品を使用する(図 2)。

**レーザー装置:** Er-LBRT で使用する Er:YAG レーザーをテスト群とし、照射条件は Er-LBRT で用いられる 20Hz、非注水下、パネル値 30mJ、40mJ、50mJ の 3 条件で使用し、各条件における変化を観察する。ネガティブコントロールとして炭酸ガスレーザー群を設定し照射条件はプリセットの切開モード、凝固モードを使用し、コントロールとしてレーザー非照射群に設定する(図 2)。照射は臨床応用されている方法に従い対象より 5mm 離し 30 秒/5mmx5mm のスウィーピングモーションで行う。以下の(a)から(c)の実験のレーザー照射群では上記の 6 条件を 3 種類の骨補填材料に行うため、コントロールを含め 18 条件で行う。

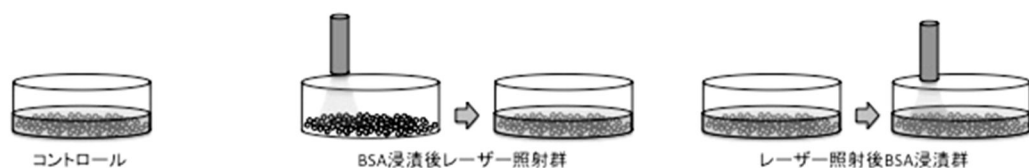
図 2 使用レーザー装置および骨補填材と実験項目

レーザー装置・照射条件	骨補填材	実験項目
コントロール群: レーザー非照射	• $\beta$ -TCP	• 形態的变化観察
Er:YAGレーザー群: 非注水、30mJ	• 炭酸アパタイト	• 表面元素分析
非注水、40mJ	• 非吸収性ウシ骨	• タンパク吸着能測定
非注水、50mJ		• 骨芽細胞初期接着観察
炭酸ガスレーザー群: 切開モード		• 骨芽細胞分化能測定
凝固モード		• 骨芽細胞増殖能測定

**(a)形態的变化・表面元素分析:** 各条件下でレーザー照射群と非使用群で表面の形態および元素状態を走査型電子顕微鏡(SEM)、エネルギー分散型エックス線解析装置にて観察する。

**(b)タンパク吸着能測定:** タンパク吸着能の測定はウシ血清アルブミン(BSA)を用い Bradford 法にて解析する。コントロールとして各骨補填材料にレーザー非照射の条件で BSA に浸漬する。テスト群は骨補填材を BSA に浸漬前に上記の条件でレーザーを照射する群と BSA に浸漬後にレーザーを照射する群に分ける(図 3)。

図 3 タンパク吸着能実験モデル



**(c)細胞試験:** マウス骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)をレーザー非照射骨補填材(コントロール群)またはレーザー照射骨補填材(テスト群)上に  $1 \times 10^5$  個/ml で播種し、24 時間後に骨補填材を回収し SEM を用いてオスミウムでコーティング後、細胞の初期接着を確認する。7,14,21 日後に MTS アッセイ及びアルカリフォスファターゼ活性を計測し、細胞増殖能及び骨分化能にレーザー照射が及ぼす影響を検討する(図 4)。

### 4. 研究成果

本研究は骨移植材料と細胞を用いた研究を主としていたが、新型コロナウイルス感染拡大下であり当初の研究計画を大幅に見直す結果となった。研究内容は Er-LBRT および他のレーザーを用いた骨再生術式の症例研究に変更し、得られた結果は以下である。

1. Er:YAG レーザーを用いた歯周組織再生治療ではメンブレンを用いた従来法と比較し、手術時間は大幅に短縮され、術後の疼痛、腫脹、感染のリスクを低減させる事が出来る。

- 炭酸アパタイトを用いた症例では骨移植材料が骨に置換される期間は、約 5-6 ヶ月であるが Er-LBRT を応用した症例では 4 ヶ月でも十分な骨再生が認められた。
- 歯周組織再生治療ではエナメルマトリックスデリバティブと自家骨移植に Er-LBRT を応用した症例のみで再生が確認されていたが、新たに異種骨と炭酸アパタイトを用いた骨再生材料でも同様の術式で再生が認められた。



- 歯槽堤保存術への Er-LBRT の応用では抜歯後の残存骨形態に大きな影響を受ける事なく、全ての症例で十分な骨再生を確認し、抜歯後同時にインプラントを埋入した症例では全ての症例で良好な二次固定が得られていた。

**Table 2 Clinical Dimensional Changes of Regenerated Bone Tissue**

	Ridge preservation (RP) cases										Mean ± SD
	1	2	4		6			7	10		
Treatment site (FDI)	45	21	46	47	12	11	21	22	47	47	
Regenerated bone height, mm	6.5	5.1	8.1	8.3	6.4	6.8	5.7	5.0	6.2	6.3	6.4 ± 1.0
Regenerated buccal bone width,* mm	6.5	2.5	3.5	10.3	4.2	7.9	2.0	4.2	10.3	7.8	5.9 ± 3.1

\*Regenerated buccal and lingual/palatal bone width for RP and buccal bone width for RA

- 歯槽堤増大術への Er-LBRT の応用では従来法のメンブレンテクニックと比較し、再生骨量は概ね同等であり、いずれの症例も十分な骨再生が確認された。また同時にインプラントを埋入した症例では全ての症例で良好な二次固定が得られていた。

	Ridge augmentation (RA) cases												Total Mean ± SD	Total Mean ± SD
	1	3	4		5			8		9				
	46	24	14	15	32	31	41	42	45	46	45	46		
	1.2	10.0	4.7	5.3	11.2	9.0	9.0	12.3	0.4	1.5	0.9	4.0	5.8 ± 4.3	6.1 ± 3.2
	2.0	2.0	3.0	8.3	10.3	9.3	8.8	8.2	1.6	1.6	1.5	2.2	4.9 ± 3.7	5.4 ± 3.4

- インプラント周囲炎治療への Er-LBRT の応用では、過去の報告ではメンブレンが必要であった術式に対し、メンブレンを使用する事なくプラットフォームまでの十分な骨再生が確認された。
- 上記の歯槽堤増大術および歯槽堤保存術において炭酸ガスレーザーおよび半導体レーザーが移植骨表面の血餅形成に有効である事が臨床的に確認でき、各レーザーとも十分な骨再生および良好な治療結果が確認された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Taniguchi Yoichi, Sawada Kosaku, Yamada Azusa, Mizutani Koji, Meinzer Walter, Iwata Takanori, Izumi Yuichi, Aoki Akira	4. 巻 41
2. 論文標題 Er:YAG Laser-Assisted Bone Regenerative Therapy for Implant Placement: A Case Series	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry	6. 最初と最後の頁 e167 ~ e175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11607/prd.5067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Lin Taichen, Taniguchi Yoichi, Aoki Akira, Chen Chun-Cheng	4. 巻 16
2. 論文標題 The “ Er:YAG laser-assisted periimplantitis total therapy (Er:LPTT) ” -a novel procedure to perform periimplantitis treatment with bone regeneration therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Dental Sciences	6. 最初と最後の頁 1302 ~ 1304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jds.2021.05.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Lin Taichen, Taniguchi Yoichi, Aoki Akira, Chang Yu-Chao	4. 巻 14
2. 論文標題 Clinical evaluation of multiple peri-implant bony defect management by Er:YAG laser-assisted bone regenerative therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dental Sciences	6. 最初と最後の頁 430 ~ 432
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jds.2019.07.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Taniguchi Yoichi, Aoki Akira, Takagi Toru, Mizutani Koji, Izumi Yuichi	4. 巻 40
2. 論文標題 Development of Er:YAG Laser-Assisted Bone Regenerative Therapy (Er-LBRT) in Periodontal and Peri-Implant Therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nippon Laser Igakkaishi	6. 最初と最後の頁 45 ~ 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2530/jslsm.jslsm-40_0011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Yoichi Taniguchi
2. 発表標題 How to use dental laser device to bone regeneration treatment ?-LBRT will change dentistry !
3. 学会等名 Taiwan Academy of Laser and Holistic Dentistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoichi Taniguchi
2. 発表標題 Laser-assisted bone regenerative therapy for periodontitis, implant treatment and peri-implantitis.
3. 学会等名 World Federation for Laser Dentistry- Asian Pacific Division (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoichi Taniguchi
2. 発表標題 Laser-assisted bone regenerative therapy for periodontitis, implant treatment and peri-implantitis.
3. 学会等名 Taiwan Academy of Laser and Holistic Dentistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------