

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月25日現在

機関番号：33902

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791854

研究課題名（和文）Er:YAG レーザーの根管治療への応用

研究課題名（英文）Application of Er:YAG laser for root canal treatment

研究代表者

稲本 京子（INAMOTO KYOKO）

愛知学院大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：00469008

研究成果の概要（和文）：根管治療においてより高い成功率を得ることを目的に、根管細菌に対する殺菌消毒法の新たな一手段として、Er:YAG レーザー応用の可能性を検討した。Er:YAG レーザーで根管拡大形成が可能な照射条件(25pps/30mJ)を用いて根管照射を行ったところ、細菌の萎縮および破壊像が認められた。また lipopolysaccharide (LPS) 量は、根管表層から 100 μm までの試料は、未照射の試料より有意に減少していた。

研究成果の概要（英文）：This study was to evaluate whether Er:YAG laser radiation into root canal is effective method for intracanal disinfection. The denaturation of proteins and the destruction of bacteria were observed by laser irradiation (25pps/30mJ). The LPS content was significantly lower in the samples from the pulpal surface to 100 μm .

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：Er:YAG レーザー、根管治療、根管細菌、LPS

1. 研究開始当初の背景

感染根管処置において、根管および象牙細管内を無菌化することは根管治療を成功に導くための重要な要素の一つである。従来、根管の感染源除去には、器具による機械的清掃、根管洗浄液による化学的清掃、根管貼薬剤による消毒などが行われている。しかし、細菌の象牙細管内への侵入や、根管の解剖学的複雑性などのために、根管を完全に無菌化することが困難な症例も多い。

近年、歯科臨床において、レーザーの応用

が広がりを見せている。その中で Er:YAG レーザーは、発振波長が 2.94 μm の中赤外線レーザーである。特徴として、水に極めてよく吸収され、水を含んだ生体組織に対し高い蒸散能力を発揮する。この特徴は、硬組織の切削を可能にしている。また、水分を含んでいる細菌に「micro-explosion (微小爆発)」効果を有することや、細菌の細胞壁成分であるエンドトキシン lipopolysaccharide (LPS) に効果的に作用することで殺菌効果もあるとされている。

最近、根管に挿入可能な外形の細い根管

照射用のチップが開発された。Er:YAG レーザーの周囲への熱的影響は少なく、根管内で使用した場合の安全性は高いと考えられる。この根管照射用チップを使用すると、器具や洗浄液が届きにくい部位でも照射光が届き、レーザーの殺菌効果が発揮されることが考えられる。従って、従来の根管治療にレーザーを併用することで、感染根管治療の成功率が増加し、歯内治療全体の予後向上につながるものと推測される。

2. 研究の目的

Er:YAG レーザーには硬組織切削能がある。私は、ヒト抜去歯歯根に根管照射用チップを用いてレーザー照射を行ったところ、根管象牙質が切削され根管が拡大されたことを以前に報告している。

今回、根管拡大形成が可能な照射条件を用い、根管の拡大形成と同時に、根管内の殺菌効果が得られるかどうかについて検討を行った。

3. 研究の方法

Er:YAG レーザー装置として、Erwin AdvErL[®] (モリタ製作所、京都)、照射チップとして根管照射用円錐型チップ R200T (内径 200 μm 、ジャケット径 300 μm) (モリタ製作所、京都) を使用した。この照射チップは、先端角度 84 度の円錐型に加工されており、照射エネルギーの約 8 割はやや斜め後方の根管壁方向へ周囲 360 度にわたり照射され、残りの約 2 割は根尖方向に 2~4 度の開きをもって照射される。

試料にレーザーを均等な条件で照射するため、試料およびレーザー装置のハンドピースを固定するステージと、そのステージを駆動するコントローラを搭載した実験装置 (移動ステージ) (神津精機株式会社、神奈川) を使用した。

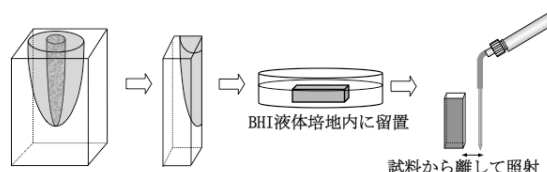
試料として、ヒト新鮮抜去歯あるいは透明根管模型を用いた。

供試細菌として、*Streptococcus mutans* (*S. mutans*)、*Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) および *Candida albicans* (*C. albicans*) の 3 菌種を用いた。

(1) 細菌の形態学的観察

ヒト新鮮抜去歯歯根をエポキシブロックに包埋、歯軸に平行に切断し歯根象牙質ブロックを作製した。*E. faecalis* を播種した BHI 液体培地内にブロックを留置し実験試料とした。

試料を移動ステージに固定、歯質が切削されないように、照射チップを 10pps・30mJ の場合は 90 μm 、25pps・30mJ の場合は 140 μm 離し、レーザー照射を行った。走査電子顕微鏡 (SEM) を用いて形態学的観察を行った。



(2) 殺菌効果の検討

試料として、透明根管模型およびヒト新鮮抜去歯歯根をエポキシブロックに包埋したものを用いた。それぞれ、手用 RT ファイルを用いて #40 まで根管拡大形成し、10% EDTA と 10% NaClO を用いて化学的清掃し、超音波洗浄をした後にオートクレーブ滅菌を行った。その後、*S. mutans*、*E. faecalis* および *C. albicans* の菌液を根管内に注入し、感染根管モデルを作成した。この人工感染根管を、コントロール群とレーザー照射群に分けて実験を行った。

コントロール群は、根管内で照射チップを上下運動するのみとし、レーザー照射群は 10pps・30mJ あるいは 25pps・30mJ の照射条件で 10 往復照射を行った。その後、ペーパーポイントにて菌液を回収し、各菌種それぞれの選択培地上に播種、培養後に CFU/ml を算出した。

また、レーザー照射した細菌の生死を識別し、レーザー照射後の象牙質内への殺菌効果の深度を確認するために、LIVE/DEAD[®] 染色を行った。(1) と同様の手順で試料を作製し、25pps・30mJ の条件で、照射チップを 140 μm 離してレーザーを照射後、さらに歯根を 2 つに切断し、断面に LIVE/DEAD[®] 染色を施し、生菌と死菌の分布を蛍光顕微鏡で観察を行った。

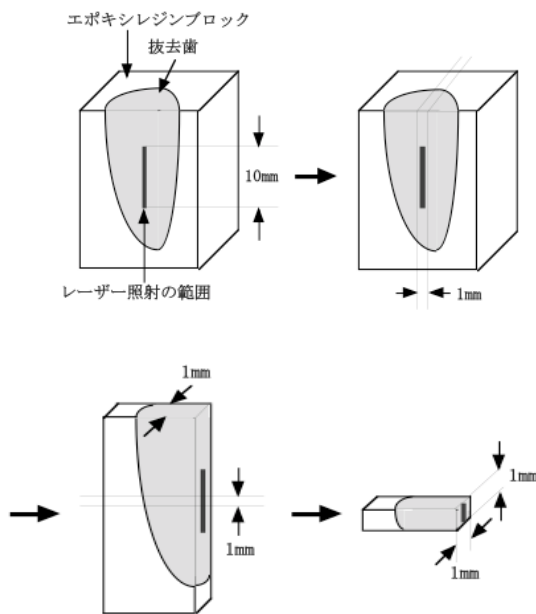
(3) LPS に対する影響

試料として、ヒトの抜去歯歯根を使用した。エポキシブロックに包埋した歯根を歯軸と平行に切断し、その切断面を研磨、化学的清掃後にオートクレーブ滅菌を行った。その後、LPS (*Escherichia coli*:0111-B4) 溶液 (150 $\mu\text{g/ml}$) に 2 週間浸漬し、LPS を浸透させて実験試料とした。

試料を移動ステージに固定し、照射チップを 140 μm 離し 25pps・30mJ の条件でレーザー照射を行った。

照射後、レーザー照射部を中心に断面積が約 1mm^2 の四角柱になるように切断しその切片を真鍮製の金属棒に接着、固定した。固定した試料を Mikrokator[®] に装着し abrasive micro-sampling 法にて根管側からセメント質側へ、分画された試料をラッピングフィルムを用いて $100\mu\text{m}$ ごとに $500\mu\text{m}$ まで5層の象牙質粉を採取した。コントロール群として、レーザー未照射の試料からも同様に象牙質粉を採取した。

LPS はエンドスペシー[®]を用い吸光度測定から定量した。吸光度の測定には分光光度計マイクロプレートリーダーで波長 405nm にて測定した。その際、LPS 濃度はエンドスペシー付属の *E. coli*:0113-H10 の LPS を基準とし LPS 標準曲線から定量を行った。



4. 研究成果

(1) 細菌の形態学的観察について

SEM 像に置いて、レーザー未照射のコントロール群では、類円形の *E. faecalis* 像を認めたが、レーザー照射群では $10\text{pps} \cdot 30\text{mJ}$ および $25\text{pps} \cdot 30\text{mJ}$ ともに細菌の萎縮、変性あるいは破壊像が観察された。ただし、照射条件間による形態学的変化に大きな差異は認められなかった。

(2) 殺菌効果の検討について

透明根管模型を用いた *S. mutans* 感染根管モデルにおいては、 $10\text{pps} \cdot 30\text{mJ}$ で 99.9% の殺菌効果を示し、 $25\text{pps} \cdot 30\text{mJ}$ では 100% (すべて検出限界以下) であった。*E. faecalis* においては、 $10\text{pps} \cdot 30\text{mJ}$ で 97.4% 、 $25\text{pps} \cdot 30\text{mJ}$ では 97.6% の殺菌効果を示し、*C. albicans* においては、 $10\text{pps} \cdot 30\text{mJ}$ で 98.5% 、 $25\text{pps} \cdot 30\text{mJ}$ では 98.8% の殺菌効果を示した。

ヒト抜去歯歯根を用いた *S. mutans* 感染根管モデルにおける殺菌効果は、 99.0% であった。*E. faecalis* においては、 99.9% の殺菌効果を示した。

LIVE/DEAD[®]染色の結果では、根管側から約 $400\mu\text{m}$ の深さまで、死菌層 (赤色) として確認された。

(3) LPS に対する影響について

各層におけるレーザー照射群の LPS 量は、コントロール群と比較して表層から $400\mu\text{m}$ の層までは減少しており、表層から $100\mu\text{m}$ の層においては、両者間に有意差 ($p < 0.05$) が認められた。

(1) ~ (3) の結果から、根管拡大形成が可能な今回の照射条件において、透明根管模型およびヒト抜去歯歯根ともに、高い殺菌効果を示した。また LIVE/DEAD[®]染色より、約 $400\mu\text{m}$ の深さまでレーザーの効果を生菌層として認めた。しかし、それ以上に細菌が象牙細管内に侵入している可能性は高いため、レーザーによる根管内の完全な殺菌は難しいと思われた。しかしながら、レーザーによる殺菌効果は物理的作用のため、即効性があり、また薬剤による殺菌消毒と異なり、アレルギーや耐性菌の出現などの副作用は少ないという利点がある。

以上より、Er:YAG レーザーの根管拡大形成が可能な照射条件での根管照射は、根管内細菌および LPS に対して、有効的に作用したが、今後さらに根管内の完全な無菌化が得られるような照射条件の検討が必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

①千田晋平、堀場直樹、稲本京子、千田 彰、松本 享、中村 洋、Er:YAG レーザーによる根管内殺菌効果の検討、日本レーザー歯学会誌、査読あり、第 1 号、2012、12-19

6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲本 京子 (INAMOTO KYOKO)
愛知学院大学・歯学部・非常勤講師
研究者番号：00469008

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし