

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 15 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792329

研究課題名(和文) 尿素を用いた光感受性試薬の開発 - エルビウムヤグレーザー併用による歯周治療の確立

研究課題名(英文) Development of photosensitizer with urea-Establishment of periodontal treatment combined with Er:YAG laser.

研究代表者

峯岡 茜 (Mineoka, Akane)

広島大学・大学病院・助教

研究者番号：00452623

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：近年、歯周病治療において光感受性物質を応用する交戦力学療法やレーザーの応用が注目されている。今回、歯周病治療における有用性の高いEr:YAGレーザーの応用法の獲得を目的とし、尿素含有光感受性試薬を調製し、Er:YAGレーザー照射併用の歯周病原性細菌に対する殺菌効果の評価を行った。その結果、5%、10%尿素濃度試薬においてレーザー照射時間に依存して*P.gingivalis*の細菌数が減少した。またエネルギー密度が上昇するほどLPS除去率は高くなる傾向にあったが、レーザー単独群と有意差は認められなかった。以上より尿素含有光感受性試薬・Er:YAGレーザー併用による歯周治療の新たな可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In recent years, there has been growing interest in the use of dental lasers for treatment of periodontal diseases. The purpose of this study was to acquire an effective Er:YAG laser treatment with photosensitizer and evaluate the effects of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with urea-containing reagent as photosensitizer for periodontal treatment.

It was confirmed that the concentration of urea the most effectively involved in tartar removal was 5% urea. With urea-containing reagent application, the number of *P.gingivalis* decreased with increasing Er:YAG laser irradiation time in vitro. Laser with photosensitizer reagent group had a higher LPS elimination efficiency with increasing energy density, there was no significant difference between laser group and laser with photosensitizer reagent group though.

研究分野：保存修復学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：レーザー 歯周病 LPS

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症である歯周病の治療は歯周病原性細菌およびバイオフィルムの除去が重要な基本的処置であるが、近年、従来の機械的治療の代替的手段としてレーザーが応用され、現在までに、種々のレーザーによる殺菌作用、消炎効果、生物学的効果などが確認されている。特に Er:YAG レーザーの有用性は高く、LPS 除去作用 (波長 (2,94 μm) と歯周病原性細菌であるグラム陰性菌の起炎物質 LPS の吸収波長 (2,92 μm) が近似)、根面の歯石除去および殺菌作用、エンドトキシンの無毒化などの有用性も明らかとなっている (Kobayashi, JP, 1998、Schwarz, Lasers Sug Med, 200. etc)。しかしながらレーザーの作用機序は蒸散作用、熱作用が主体となっており、周囲組織への傷害作用の問題、各組織へ選択的に作用することの困難性などの問題のために補助的手段にしか応用されていないのが現状である。

一方、医療の様々な分野で応用されている光線力学療法 (Photodynamic therapy: PDT) の原理を利用した新たな歯周治療が注目されてきている。現在までに様々な光感受性物質と波長の併用による aPDT の有用性が研究されている。半導体レーザーとインドシアニングリーンの併用などによる基礎的、臨床的成果が多数報告され、徐々に臨床応用され始めている。しかしながら、いずれも可視光から近赤外線領域のレーザーに対する光感受性物質であり、Er:YAG レーザーなど長波長のレーザーに対する光感受性物質は報告されていない。また、その有用性は機械的手段との併用療法において明らかになっているものの単独療法として有用性や手技は確立していない。

現在、過酸化尿素という形で歯牙漂白に用いられている尿素は 2750~3100nm の光感受性物質である。そこで、尿素を含有させた光感受性薬剤を Er:YAG レーザー照射前に適用

することで尿素が沈着した箇所にレーザー光のエネルギーが集中し選択的な歯石除去が予想される。それはまた低出力で高い効果が期待され周囲組織への傷害作用の問題も解決しうると考えられる。

以上のように、歯周治療において他のレーザーよりも高い有用性が確認されている Er:YAG レーザーと尿素を応用した光感受性薬剤の併用による歯石除去および殺菌効果を検証する着眼点に至った。

2. 研究の目的

歯周病は糖尿病合併症であり、慢性炎症としての歯周病をコントロールすることで、糖尿病のコントロール状態が改善するということが知られている。近年、歯周治療において光感受性物質を応用する光線力学療法やレーザーの応用が注目されている。しかしながらそれらの手技や臨床効果は確立しておらず、補助的手段にすぎないのが現状である。故に歯周病の改善に貢献しう、有用性の高い Er:YAG レーザーの応用法の獲得を目的とし、尿素を光感受性物質として含有する光感受性試薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) 1. 尿素含有光感受性試薬の調製および歯石除去効率の評価

試薬の調製。尿素は無色であるため、視認性向上のために色素を配合する。従来のう蝕検知液の成分であるアシッドレッド、aPDT の光感受性薬剤の成分として既に応用されているメチレンブルーを用い比較検討する。

また、リン酸カルシウムを主成分とする多孔質の石灰化組織である歯石を選択的に染色するよう溶媒の粘度を調整する。調製試薬を歯根面歯石へ滴下後 10 秒間水洗、Er:YAG レーザー照射 (60mJ/pulse, 1pps、ErwinAdvErI:モリタ製作所) を行い、視覚的に歯石染色・除去効率を評価し、さらに SEM にて歯石除去後の歯根表面構造変化分析を

行う（歯石を有するヒト抜去歯（広島大学倫理委員会承認済み）使用）。

（2）Er:YAG レーザーと調製試薬併用の歯周病原性細菌に対する殺菌効果の評価

P.gingivalis, *A.actinomycetemcomitans* に対し調製した光感受性試薬併用による Er:YAG レーザー照射（60mJ/pulse, 1pps）を行い、嫌気培養後のコロニー形成数計測により殺菌効果の評価する。さらに、LPS に対し同様に照射を行い、リムルテストによる照射後の LPS 量測定により LPS の除去率について評価する

4. 研究成果

（1）尿素濃度 0.1%、1%、5%、10% 溶液および対照群（レーザー照射のみ）で比較した結果、0.1%、1% 溶液は対照群と差が認められなかった。5%、10% 群は効率的に歯石除去が可能であったが、10% では尿素の溶解性低下が認められた。またアシッドレッドおよびメチレンブルーの違いによる歯石除去効率の差は認められなかった。さらに、歯石の効率的な除去が認められた 5%、10% 尿素溶液について、Er:YAG レーザー（60mJ/pulse, 1pps）の照射時間を変えた場合（15S, 30S, 60S）の歯石除去後の歯根表面構造変化について SEM を用いて分析した結果、いずれにおいても亀裂、破壊などの歯根表面の構造欠陥は認められなかった。

（2）前年度は尿素含有光感受性試薬を調製し、Er:YAG レーザー併用による歯石除去効率を評価した。その結果、歯石除去効率の最も高い尿素濃度は 5% であることを確認した。そこで今年度は調製した試薬を用い、光感受性試薬・Er:YAG レーザー照射併用の歯周病原性細菌に対する殺菌効果の評価を行った。

対照群としてレーザー照射のみ行った。また歯石除去効率について 5% 尿素濃度と近似の値が得られた 10% 尿素濃度群を作製し、比

較検討を行った。

1 週間 TS 培地上で嫌気培養した *P.gingivalis*, *A.actinomycetemcomitans* 菌液に 5%、10% 尿素濃度試薬をそれぞれ滴下後、Er:YAG レーザー照射を用いて照射（15S, 30S, 60S）を行い、嫌気培養後のコロニー形成数計測により殺菌効果の評価した。その結果、*P.gingivalis* においては照射時間に依存して細菌数が減少した。一方 *A.actinomycetemcomitans* においては照射時間が長くなるにつれて細菌数の減少がわずかに認められたがいずれの照射時間においても対照群と有意差はみとめられなかった。またいずれの菌において、尿素濃度 5%、10% の違いで細菌数の有意差は認められなかった。

さらに、光感受性試薬・Er:YAG レーザー照射併用による LPS 除去率の評価を行った。カバーグラスに LPS、調整試薬滴下後レーザー照射（15S, 30S, 60S）を行い、照射後の LPS 量（リムルテスト）より LPS の除去率について評価した結果、エネルギー密度が上昇するほど LPS 除去率は高くなる傾向にあったが、いずれのエネルギー密度においてもレーザー単独群と有意差は認められなかった。また現在 aPDT の一つとして注目されている赤色 LED・トルイジンブルー併用による殺菌効果と比較検討した結果、赤色 LED・トルイジンブルー群が有意に LPS 除去率が高かった。

以上より、尿素含有光感受性試薬・Er:YAG レーザー併用による歯周治療の新たな可能性が示唆された。

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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

峯岡 茜(MINEOKA AKANE)
広島大学・病院・助教
研究者番号：00452623

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：