

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870414

研究課題名(和文) 波長5.8 $\mu$ mパルスレーザーによる虫歯の選択的切削治療技術の開発

研究課題名(英文) Selective treatment technique of caries by a pulsed laser with a wavelength of 5.8 micrometer

研究代表者

石井 克典 (ISHII, Katsunori)

大阪大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20512073

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)：低侵襲なう蝕治療の実現を目指し、象牙質の特徴的な吸収帯である波長6 $\mu$ m帯のナノ秒パルスレーザーを用いてう蝕除去に関して検討を行ってきたところ、波長5.85 $\mu$ mが選択的なう蝕除去に適していることが示唆された。切削特性とう蝕の硬さとの関係性を評価し、選択的なう蝕除去における波長5.85 $\mu$ mの有効性を検討した。抜去したヒトう蝕歯に対して、平均パワー密度30 W/cm<sup>2</sup>で照射を行い、照射領域における象牙質の硬さを測定した。象牙質硬さの減少に伴う切削深さの増加が観測され、う蝕の切削特性には組織の硬さが影響していることが示された。

研究成果の概要(英文)：Less-invasive treatment of caries has been investigated based on the characteristic absorption of dentin at 6 $\mu$ m wavelength range. A nanosecond pulsed laser with the wavelength of 5.85 $\mu$ m was found to be effective for selective removal of carious dentin. The ablation property of human carious dentin at the wavelength of 5.85 $\mu$ m was investigated based on dentin hardness. Extracted human teeth were irradiated at the average power density of 30 W/cm<sup>2</sup>. Hardness of dentin around the irradiation spot was measured. Relationship between decrease of hardness and increase of ablation depth was observed. It was indicated that hardness of dentin affected to ablation property of carious dentin.

研究分野：レーザー医学、生体光学

キーワード：低侵襲治療 レーザー 波長5.85 $\mu$ m う蝕 選択的切削

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) レーザーによるう蝕切削の現状

現在、日本では Er:YAG レーザーが硬組織切削用の医療機器として承認されている。Er:YAG レーザーは水との反応が非常に大きい波長 2.94  $\mu\text{m}$  のパルスレーザーであり、注水を伴うレーザー照射による水の微小爆発が切削機構と理解されている。一方で、注水量によって切削能が大きく異なるためう蝕(虫歯)切削の制御が困難であるとの報告があり、誤って健全歯質を切削する恐れがある。さらに、Er:YAG レーザーによるう蝕切削後、充填されるコンポジットレジンの接着強度が低下するといった報告もされている。レーザーを用いた低侵襲かつ快適なう蝕治療の実現のためにも、新たな仕様のレーザー装置の開発が必要である。

### (2) 歯の中赤外域における吸収特性

歯象牙質の中赤外域における主な吸収は波長 3  $\mu\text{m}$  帯、6  $\mu\text{m}$  帯、9-10  $\mu\text{m}$  帯に存在する。波長 3  $\mu\text{m}$  帯は OH 伸縮振動に、波長 9-10  $\mu\text{m}$  帯は PO 伸縮振動に由来する吸収である。波長 6  $\mu\text{m}$  帯はアミド結合の振動モードに由来する吸収で、波長 6.0  $\mu\text{m}$  付近の吸収帯は CO 伸縮振動に由来するアミド I、波長 6.4  $\mu\text{m}$  付近の吸収帯は NH 変角および CN 伸縮振動に由来するアミド II と呼ばれている。これらの波長帯のレーザーでは効率の良い切削が期待できる。しかしながら、波長 3  $\mu\text{m}$  帯は前述の Er:YAG レーザーでの報告があるとおり、水に対する吸収が非常に大きいため歯質の含水量や注水量によって切削能が大きく異なってくるため制御が難しいと考えられる。また、波長 9-10  $\mu\text{m}$  帯のレーザーとして炭酸ガスレーザーが挙げられるが、健全象牙質の組成の約 70% を占める無機質(ハイドロキシアパタイト)による吸収が存在するため、健全象牙質に対する侵襲が非常に大きい。一方、波長 6  $\mu\text{m}$  帯は象牙質の組成の約 20% を占める有機質と相互作用を起こす。さらには、う蝕では無機質の溶出に伴い有機質の割合が大きくなることから、波長 6  $\mu\text{m}$  帯はう蝕の選択的な切削が期待できる。

### (3) 波長 5.8 $\mu\text{m}$ 帯によるう蝕の選択的除去の可能性

我々は、非線形光学技術の一種である差周波発生(difference-frequency generation: DFG)を利用した中赤外波長可変ナノ秒パルスレーザー(以下、DFG レーザー)を用いて、波長 6  $\mu\text{m}$  帯においてう蝕象牙質の選択的な切削の条件について検討してきた。ウシ歯象牙質を試料として用いた実験の結果、象牙質の吸収ピーク波長 6.00  $\mu\text{m}$  より短波長側の 5.80-5.85  $\mu\text{m}$  付近が選択的なう蝕切削に適しているという結果が得られた。しかしながら、ヒト歯象牙質う蝕部を試料として用いた実験の結果、同じ照射条件を用いてもう蝕によって切削効率が異なる様子が観測された。

Ca 含有量の小さいう蝕ほど切削効率が大きかったことから、無機質の溶出程度による硬さの違いが原因と推測された。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、う蝕の硬さと切削特性の関係性を評価し、波長 5.85  $\mu\text{m}$  のナノ秒パルスレーザーによる選択的なう蝕切削のメカニズム解明に関して検討を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) 試料

咬合面に対して平行に切り出したヒトう蝕歯を室温で乾燥させたものを用いた。う蝕は進行度によって硬さや無機質含有量が異なっており、褐色であっても取り除かないう蝕が存在する。そこで、歯科医経験 7 年以上の 2 名の歯科医によるヒトう蝕歯の診断を、臨床のう蝕診断において主流である視診・触診にて事前に行い、「除去する」「除去しない」「どちらともいえない」の 3 種類に分類した。視診は試料の着色具合を目視にて、触診は象牙質の硬さをスプーンエキスカベーターにて確認した。「除去する」「除去しない」「どちらとも言えない」の分類は、歯科医が臨床現場でう蝕を診断する際の判断基準に従い、区別が困難な部位および 2 名の診断が相反した部位は「どちらとも言えない」に分類した。

### (2) レーザー光源

DFG 方式の中赤外波長可変ナノ秒パルスレーザー(川崎重工業株式会社と理化学研究所の共同開発)を使用した。非線形光学結晶 AgGaS<sub>2</sub>(銀硫化ガリウム)に対して、Q スイッチ Nd:YAG レーザー(波長 1064 nm、TEMPEST 10、New Wave Research、Sunnyvale、USA)と Q スイッチ Nd:YAG レーザー(TEMPEST 300、New Wave Research、Sunnyvale、USA)により励起され発振される Cr:forsterite レーザー(波長 1150-1350 nm)を入射し、DFG により中赤外光を得た。Cr:forsterite レーザーの波長は分光プリズムに入射する際のリアミラーを自動調整することで特定の単一波長のみを取り出すことができる。本研究では、Cr:forsterite レーザーの波長を 1300.5 nm および 1293.4 nm に調整し、差周波として波長 5.85  $\mu\text{m}$  および 6.00  $\mu\text{m}$  を得た。パルス幅は 5 ns、パルス繰り返し周波数は 10 Hz であった。

### (3) 照射方法及び条件

焦点距離 100 mm の放物面鏡を用いてレーザーをステージ上に集光し照射実験を行った。ナイフエッジ法で定義したビーム直径は約 100-150  $\mu\text{m}$  であった。照射時間の制御は電磁シャッター(F77-4、駿河精機、静岡)を用いて行った。波長 5.85  $\mu\text{m}$  および 6.00  $\mu\text{m}$ 、平均パワー密度 30 W/cm<sup>2</sup>、照射時間 2 s の照射条件で、波長 5.85  $\mu\text{m}$  においては 7 本の抜去歯に対して 40 か所、波長 6.00  $\mu\text{m}$  においては 4 本の抜去歯に対して 26 か所、非注水下で定点照射を行った。

(4) 評価方法

切削深さの測定には共焦点レーザー顕微鏡 (OLS3000、OLYMPUS、東京) を用いた。硬さはダイナミック超微小硬度計 (DUH-211、SHIMADZU、京都) を用いてレーザー照射後の照射痕近傍の換算ピッカース硬さを算出した。切削深さとピッカース硬さを測定した後、走査型電子顕微鏡 (JCM-5700、JEOL、東京) を用いてレーザー照射痕の形態観察を行った。なお、試料の前処理としてイオン Sputter (E-1010、HITACHI、東京) を用いて試料表面に約 10 nm の金コーティングを施した。

4. 研究成果

(1) 実験結果

図 1 に波長 5.85 μm および 6.00 μm、平均パワー密度 30 W/cm<sup>2</sup>、照射時間 2 s で定点照射した際の健全象牙質 (「除去しない」に分類された領域) およびう蝕象牙質 (「除去する」に分類された領域) の照射痕の電子顕微鏡画像を示す。波長 5.85 μm において、健全象牙質は試料表面が少々切削されたのみで顕著な痕は観察されないのに対し、う蝕象牙質では大きな切削が生じており、う蝕象牙質に対する選択性が観察された。一方、波長 6.00 μm においては、健全およびう蝕象牙質のどちらにおいても大きな切削痕が観察され、う蝕象牙質に対する選択性は観察されなかった。レーザー照射に伴うクラックは、どちらの象牙質においても観察されなかった。

図 2 に波長 5.85 μm および 6.00 μm、平均パワー密度 30 W/cm<sup>2</sup>、照射時間 2 s の照射条件で照射した際の切削深さとピッカース硬さの関係を示す。波長 5.85 μm においては、ピッカース硬さが増加するにつれて切削深さが低下する傾向が観測され、線形近似における R<sup>2</sup> 値は 0.5873 で緩やかな線形関係を示し、象牙質の切削特性が硬さに依存していることが観測された。一方、波長 6.00 μm において、切削深さは象牙質の硬さに依らず約 100-120 μm と一定の値を示し、R<sup>2</sup> 値 0.0336 と相関関係は観測されなかった。また、両波

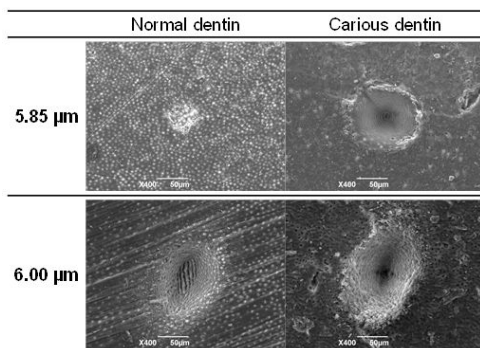


図 1 波長 5.85 μm および 6.00 μm における健全およびう蝕象牙質照射痕の電子顕微鏡画像

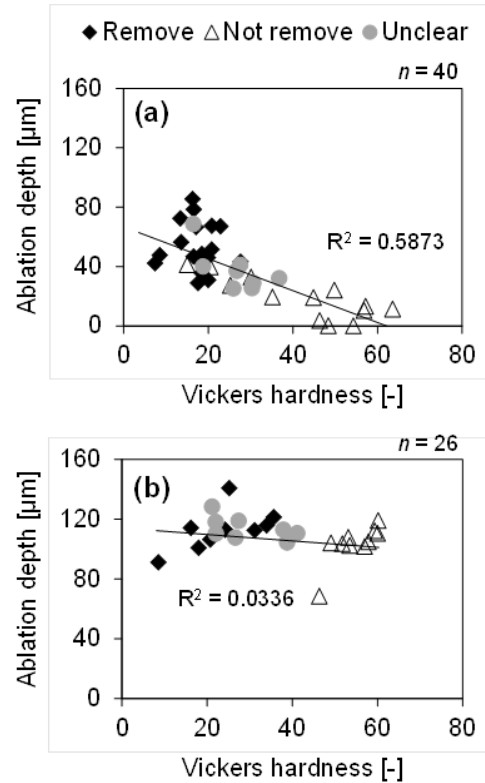


図 2 切削深さとピッカース硬さの関係 (◆: 除去する、△: 除去しない、●: どちらともいえない) (a) 波長 5.85 μm、(b) 波長 6.00 μm)

長の切削特性の評価を行ったヒトう蝕歯の試料群において、ピッカース硬さが約 30-40 で「除去する」と「除去しない」の領域が区分される傾向が観測された。

(2) 考察

一般的にう蝕が進行するにつれて無機質の溶出である脱灰が生じ、有機質の割合が大きくなる。無機質と有機質の成分割合はう蝕の進行とともに連続的に変化し、硬さもそれに伴って変化すると考えられる。その結果、う蝕象牙質の「除去する」、「除去しない」の領域がピッカース硬さ約 30-40 で区分されるということが示された。これは、本研究の歯科医師によるう蝕診断ではピッカース硬さ約 30-40 が基準になっているというを示唆している他、ピッカース硬さをう蝕を切削する際の指標として用いることが可能であることを示している。実際に、う蝕象牙質を切削したのちの残存象牙質のヌーブ硬度が約 20 であったことから、除去すべきう蝕象牙質の基準値としてヌーブ硬度 20 を提案している研究グループがある。その他にも、う蝕の進行と硬さの関係に関する報告はいくつかあり、う蝕の判断における硬さの有効性が示されていると言える。しかし、ミニマルインターベンション (minimal

intervention; MI)に基づいたう蝕治療では、感染歯質の選択的な除去が求められるが、硬さを指標として感染歯質を判断することは現状では困難とされている。本研究では、う蝕の大きな特徴の一つである硬さに基づいて選択的なう蝕切削が可能であることが示されたが、感染歯質と非感染歯質に基づいたう蝕切削の観点に関しては更なる検討が必要である。

波長 5.85  $\mu\text{m}$  を用いた際、ピッカース硬さの増加に伴って切削深さは減少したが、波長 6.00  $\mu\text{m}$  ではピッカース硬さに依存せず一定の切削が観察された。レーザー照射による生体相互作用は大きく“熱的作用”と“機械的作用”に分類される。DFG レーザーはパルス幅が 5 ns で、う蝕象牙質の熱緩和時間よりも十分に短いことから、組織に対する熱的な影響を抑えながら機械的作用によって組織を切削することが可能である。この機械的切削は、光が吸収された組織から発生する応力が、組織の機械的強度を上回った場合に生じる。組織が硬い、つまりピッカース硬さが大きいほど組織の機械的強度も高くなることが推測される。一方、応力は一般的に単位体積当たりの吸収エネルギー量が大きいほど大きくなる。レーザーの照射エネルギーを一定にした場合、単位体積当たりの吸収エネルギー量は組織の吸収係数に依存しており、吸収係数が大きいほどエネルギーは組織表面で吸収されるため、単位体積当たりの吸収エネルギー量は大きくなる。今回用いた 2 波長を比較すると、波長 6.00  $\mu\text{m}$  は有機質の吸収極大であり吸収係数は波長 5.85  $\mu\text{m}$  よりも大きいため、照射によって発生する応力も波長 5.85  $\mu\text{m}$  に比べて大きくなっていることが推測される。そのため、波長 6.00  $\mu\text{m}$  においてはピッカース硬さが最も大きい場合（機械的強度が最も高い場合）においてもその応力が機械的強度を上回るため、顕著な切削が生じた一方で、波長 5.85  $\mu\text{m}$  においては発生する応力が 6.00  $\mu\text{m}$  に比べて小さいため、ピッカース硬さの大きい領域では応力が機械的強度を下回るため切削が生じないが、ピッカース硬さの小さい領域ではそれを上回るため切削が生じたと考えられる。

低侵襲なう蝕治療において、う蝕切削後に充填されるコンポジットレジンの接着強度も重要な点であり、今後評価を行う必要がある。さらに、切削効率の向上も課題の一つであるが、これはパルス繰り返し周波数の増加が有効であると考えられる。他にもレーザーの小型化、導光路および先端チップの開発など克服すべき課題がいくつかあり、今後臨床応用可能なデバイスの開発が求められる。

#### <引用文献>

佐伯将之、石井克典、吉川一志、保尾謙三、山本一世、粟津邦男、波長 6.02  $\mu\text{m}$  のナノ秒パルスレーザーによる脱灰象牙質の選択的切削、日本レーザー歯学会誌、

Vol. 22、2011、pp. 16-20

K. Ishii, M. Saiki, K. Yoshikawa, K. Yasuo, K. Yamamoto, K. Awazu, Selective excavation of decalcified dentin using a mid-infrared tunable nanosecond pulsed laser: wavelength dependency in the 6  $\mu\text{m}$  wavelength range, Proc. SPIE, Vol. 8092、2011、p. 809206

清水明彦、鳥井康弘、スプーンエキスカベーターに関する研究 第 2 報 スプーンエキスカベーターの刃先のシャープネスと剔削能力との関係、日本歯科保存学会誌、Vol. 28、1985、pp. 690-694

M.K. Pugach, J. Strother, C.L. Darling, D. Fried, S.A. Gansky, S.J. Marshall, G.W. Marshall, Dentin caries zones: mineral, structure, and properties, J. Dent. Res., Vol. 88、2009、pp. 71-76

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 11 件)

K. Ishii, T. Kita, K. Yoshikawa, K. Yasuo, K. Yamamoto, K. Awazu, Selective removal of carious human dentin using a nanosecond pulsed laser operating at a wavelength of 5.85  $\mu\text{m}$ , Journal of Biomedical Optics, 査読有、Vol. 20、2015、p. 051023、

DOI:10.1117/1.JBO.20.5.051023

T. Kita, K. Ishii, K. Yoshikawa, K. Yasuo, K. Yamamoto, K. Awazu, In-vitro study about selective removal of bovine demineralized dentin using nanosecond pulsed laser at wavelengths around 5.8  $\mu\text{m}$  for realizing less invasive treatment of dental caries, Lasers in Medical Science, 査読有、Vol. 30、2015、pp. 961-967、

DOI: 10.1007/s10103-013-1517-9

北哲也、石井克典、吉川一志、保尾謙三、山本一世、粟津邦男、波長 5.85  $\mu\text{m}$  ナノ秒パルスレーザーを用いたう蝕象牙質の選択的な除去；硬さと切削特性の関係、日本レーザー歯学会誌、査読有、Vol. 25、2014、pp. 2-7、

DOI: 10.5984/jjpnsoclaserdent.25.2

K. Ishii, T. Kita, K. Yoshikawa, K. Yasuo, K. Yamamoto, K. Awazu, Ablation of human carious dentin with a nanosecond pulsed laser at a wavelength of 5.85  $\mu\text{m}$ : relationship between hardness and ablation depth, Proceedings of SPIE, 査読有、Vol. 8929、2014、p. 892908、

DOI: 10.1117/12.2039460

[学会発表](計 14 件)

K. Ishii, K. Yoshikawa, K. Yasuo, K. Yamamoto, K. Awazu, Selective ablation

of human carious dentin with nanosecond pulsed laser at wavelength of 5.85  $\mu\text{m}$ : relationship between dentin hardness and ablation depth、International Conference on Laser Applications in Life Sciences 2014、2014.6.29-7.2、Neu-Ulm (Germany)

K. Ishii、T. Kita、K. Yoshikawa、K. Yasuo、K. Yamamoto、K. Awazu、Ablation of human carious dentin with a nanosecond pulsed laser at a wavelength of 5.85  $\mu\text{m}$ : relationship between hardness and ablation depth、Photonics West BiOS 2014、2014.2.1-6、San Francisco (USA)

石井克典、北哲也、吉川一志、保尾謙三、山本一世、粟津邦男、波長 5.85  $\mu\text{m}$  のナノ秒パルスレーザーを用いたヒト歯質象牙質除去における硬さと切削深さの関係、レーザー学会創立 40 周年記念学術講演会第 34 回年次大会、2014.1.20-22、北九州国際会議場 (福岡県・北九州市) 北哲也、石井克典、吉川一志、保尾謙三、山本一世、粟津邦男、波長 5.85  $\mu\text{m}$  ナノ秒パルスレーザーを用いた歯質の選択的な除去; 硬さと切削特性の関係、第 25 回日本レーザー歯学会総会・学術大会、2013.9.28~29、住友不動産ベルサール新宿グランド (東京都・新宿区)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石井 克典 (ISHII, Katsunori)

大阪大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号: 20512073