

学 位 論 文 題 名

露出根面象牙質の耐酸性に及ぼす

Nd : YAG レーザー照射とフッ素塗布の影響

学位論文内容の要旨

【緒言】

近年、歯周治療への関心の高まりと治療法の進歩により重度の歯周病罹患歯を積極的に保存するようになってきた。しかしメンテナンス、リコールの際にブラークコントロールはかなり良好であるにもかかわらず、口腔内に露出した根面にしばしば齲蝕の発現をみることがある。歯周治療のためルートプレーニングを行うとセメント質や根面象牙質が口腔内に露出することが多く、根面齲蝕の罹患と大きな関連性を持つと考えられている。しかし、歯周病に伴い露出した根面に対する齲蝕予防の研究は少なく、未だ十分有効な方法が確立されていないのが現状である。

従来より齲蝕予防法として、フッ素は広く応用されているが、近年、各種レーザーとフッ素を併用してエナメル質の耐酸性が向上することが報告されている。なかでもNd:YAGレーザーは、レーザー照射のみで、さらに、フッ素との併用によってエナメル質の耐酸性を向上させることが報告されており、これを用いて根面の耐酸性を得ることができれば、根面齲蝕を予防する上で臨床的に価値が高いと考えられる。

本研究は、根面齲蝕の有効な予防法を開発する目的でその第一歩として、Nd:YAGレーザー照射およびフッ素塗布を応用した場合の露出根面象牙質の耐酸性に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

被験歯は、矯正治療のために抜去した齲蝕や充填物のない10才代のヒト健全小臼歯とし、キュレット型スケーラーを用いて歯根膜とセメント質を除去して象牙質を露出させた後、1本の歯根から3×3×1.5mmの象牙質試験片を4個、合計80個を作製した。さらに各試験片表面を耐水研磨紙を用いて注水下にて研磨し、試験面とした。その後脱イオン水中で超音波洗浄を行い、実験に使用した。1本の歯根から作製した4個の試験片をC群、L群、F群、L-F群の4群に分け、各群にそれぞれ次の処置を行った。C群は、コントロールで無処置とした。L群は、レーザー照射単独とし、レーザー照射のみを2回行った。F

群は、フッ素塗布単独とし、リン酸酸性フッ素溶液（以下APF）塗布のみを行った。L-F群は、レーザー照射とフッ素塗布併用とし、1回目のレーザー照射後、F群と同様にフッ素を使用したレーザーは、波長1064nmのパルス発振型Nd:YAGレーザー、Pulse Master 600LE(American Dental Technologies)で、ガイド光はHe-Neレーザーである。ファイバーの先端径は320 μ mのものを使用した。L群とL-F群のレーザー照射は、照射前に墨汁を試験面に均一に一層塗布し、照射条件を100mJ, 2.0W, 20ppsに設定し、光ファイバー先端を試験面に垂直にして可及的に近づけ、試験面全体を平均的に照射するようにファイバーを動かしながら5秒間行った。F群とL-F群のフッ素塗布は、0.9%フッ素濃度、pH 3.6のAPF、フローデンA(サンスター)、を綿球に浸漬し、1分間試験面に塗布した。試験片は処置後エアブローで乾燥させ、脱イオン水中に置いて1週間保存した後、SEM観察、EPMA分析、耐酸性試験を行った。

SEM観察用試験片は、通法に従い脱水、乾燥後、Pd-Pt蒸着を行い、加速電圧10kVで、試験片の表面形態と断面を観察、写真撮影した。

EPMA分析用試験片は、試験面の中央を垂直に半切し、樹脂に包埋後、試験片断面を注水下にて耐水研磨紙で研磨し、さらにダイヤモンドペーストで鏡面研磨まで行った。

カーボン蒸着後、加速電圧15kV、試料電流 3×10^{-8} Aで、試験片断面のカルシウム、リン、フッ素について線分析と面分析を行った。

耐酸性試験は、各試験面に各群それぞれの処置を行った後、2mm×2mmのウィンドウを設定し、ウィンドウ以外をネイルバーニッシュで被覆した。これら試験片を1個ずつ0.2M酢酸ナトリウム緩衝液5ml (pH4.2)に浸漬し、37℃恒温槽で振盪を加え、脱灰を行った。1時間後に脱灰液を採取し、AA-1475(varian)を用いて、原子吸光分析法によってカルシウム濃度を測定し、1時間後のカルシウム濃度とした。次に試験片を新しい緩衝液に浸漬し、2時間後すなわち脱灰試験開始から3時間後に脱灰液を採取し、1時間後と同様な方法でカルシウム濃度を測定し、この値に1時間後のカルシウム濃度を加えて、3時間後のカルシウム濃度とした。6時間後のカルシウム濃度も同様に測定した。各試料のカルシウム濃度は、カルシウム標準液に対する吸光度の検量線を描く方法によって求め、その濃度から換算したカルシウム量をウィンドウの面積で除して単位面積あたりのカルシウム溶出量とした。さらにL群、F群、L-F群のカルシウム溶出量とC群のカルシウム溶出量の比をカルシウム溶出抑制率として求めた。統計学的分析は、Wilcoxon signed rank testを用い、危険率5%で有意差検定を行った。

【結果および考察】

SEM観察では、C群とF群の表面は平坦で象牙細管の開口が見られ、断面像からも象牙細管の開口が認められた。一方、L群とL-F群の表面は溶岩状を呈し、象牙細管の開口は見られず、断面像からも象牙細管が表層数 μ mで閉鎖しているのが認められた。この

ことから象牙質表面へのレーザー照射は、象牙質表面を溶融して象牙細管を閉鎖し、象牙細管への細菌の侵入や他の有害刺激を阻止する可能性が考えられ、根面齲蝕の予防、さらには根面露出による知覚過敏に対して効果が期待できると思われる。

EPMA分析では、カルシウムとリンの分布は4群間に顕著な違いは観察されなかった。フッ素は、C群およびL群ではほとんど観察されなかったが、F群は表面から1-2 μ mまで観察され、さらにL-F群は表面から約5 μ mまで観察され、とくに2 μ m付近に高濃度で分布していた。L-F群のフッ素がF群より深くまで高濃度で分布していた原因として、1回目のレーザー照射で表面が溶岩状の変化をして微少な凹凸が生じ、表面積が増加したためAPF溶液が深部まで浸透しやすかったことなどが考えられる。

耐酸性試験では、脱灰時間1時間目における各群のカルシウム溶出量は、多少のばらつきはあるが、C群、L群、F群、L-F群の順番で少なくなった。L-F群はカルシウム溶出量がもっとも少なく、他の3群に対して有意差が認められた。各群のカルシウム溶出量は、時間の経過とともに増加したが、3時間目、6時間目においてもL-F群がもっとも少なく、他の3群に対して有意差が認められた。さらにカルシウム溶出抑制率も、6時間にわたりL-F群は抑制率が最も高く、L群とF群に対して有意差が認められた。このことは、L-F群すなわち、レーザー照射とフッ素塗布の併用が耐酸性の向上に有効であることを示している。

以上からNd:YAGレーザー照射とフッ素塗布を歯周治療後の露出根面象牙質に応用することは根面齲蝕予防法として臨床応用の可能性が高いと考えられる。しかし耐酸性向上のメカニズムは本研究の結果のみでは十分明かではなく、さらなる検討が必要であり、臨床に用いる場合には、レーザー照射によって生じた溶岩状表面へのプラーク細菌の付着やフッ素の分布状態の経時的変化、さらにそれらが耐酸性にどのように影響を及ぼすかについて検討を加え、歯周病患者の根面齲蝕の予防法として確立したいと考えている。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 加 藤 熙
副 査 教 授 谷 宏
副 査 教 授 佐 野 英 彦

学 位 論 文 題 名

露出根面象牙質の耐酸性に及ぼす

Nd : YAG レーザー照射とフッ素塗布の影響

審査は主査、副査が一同に会して口頭でなされ、初めに本論文の要旨の説明を求め、申請者から以下の内容について論述がなされた。

【緒言】

高齢社会を迎え、歯周治療後の露出根面に齲蝕が発現し、その対応に苦慮する症例が多くなっている。しかし、露出根面に対する齲蝕予防の研究は少なく、未だ十分有効な方法が確立されていないのが現状である。すでに各種レーザーがエナメル質の耐酸性を向上させることが報告されており、これを露出根面象牙質に応用できないかと考えた。本研究は、根面齲蝕の有効な予防法を開発することを目的として、露出根面象牙質にNd:YAGレーザー照射およびフッ素塗布を応用した場合の象牙質の耐酸性に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

被験歯は、ヒト健全小臼歯とし、歯根膜とセメント質を除去して歯根象牙質を露出させた後、1本の歯根から3×3×1.5mmの象牙質試験片を4個、合計80個作製した。1歯根から作製した4個の試験片を4群に分け、C群はコントロール群として無処置、L群はレーザー照射単独群として、レーザー照射のみを2回、F群はフッ素塗布単独群として、リン酸酸性フッ素溶液（以下APF）塗布のみ、L-F群はレーザー照射とフッ素塗布併用群として、1回目のレーザー照射後にF群と同様にフッ素塗布を行ない、その後さらに2回目のレーザー照射を行なった。

使用したレーザーは、Nd:YAG レーザー、Pulse Master 600LE (American Dental Technologies)で、墨汁を試験面に塗布し、照射条件 100mJ, 2.0W, 20ppsにし、ファイバー先端を試験面に垂直に可及的に近づけ、試験面全面を均等に動かしながら5秒間行った。フッ素塗布は、0.9%フッ素濃度、pH3.6のAPF、フローデンA(サンスター)を1分間試験面に塗布した。試験片は、脱イオン水中に1週間保存した後、走査型電子顕微鏡(SEM)観察、電子プローブマイクロアナライザー(EPMA)分析、耐酸性試験を行なった。

SEM観察は、通法に従い脱水、乾燥後、Pd-Pt蒸着を行い、加速電圧 10kVで試験片の表面形態と断面を観察した。EPMA分析は、試験面中央を垂直に半切し、試験片断面を鏡面研磨まで行ない、カーボン蒸着後、加速電圧15kV、試料電流 3×10^{-8} AでCa、P、Fの線分析と面分析を行なった。耐酸性試験は、各群の処置後、試験片に2mm×2mmのウィンドウを設定し、1個ずつ0.2M酢酸Na緩衝液5ml (pH4.2)に浸漬し、37℃恒温槽で振盪を加え、1時間後に緩衝液を採取し、原子吸光分析法によってCa濃度を測定し、1時間後のCa濃度とした。次に試験片を新しい緩衝液に浸漬し、2時間後すなわち脱灰試験開始から3時間後に同様の方法でCa濃度を測定し、この値に1時間後のCa濃度を加えて3時間後のCa濃度とした。6時間後も同様に測定した。各試料のCa濃度は、単位面積あたりのCa溶出量として表した。さらにL群、F群、L-F群の溶出量とC群の溶出量の比をCa溶出抑制率として求めた。統計学的分析は、Wilcoxon signed rank testにより危険率5%で有意差検定を行なった。

【結果および考察】

SEM観察では、L群、L-F群は、C群、F群と比べて表面が熔融して象牙細管の閉鎖が観察され、断面像からも象牙細管が表層数 μm で閉鎖しているのが認められた。このことから、象牙細管への細菌の侵入や他の有害刺激が阻止される可能性が考えられた。

EPMA分析では、CaとPの分布は4群間に違いはなかった。一方フッ素は、C群とL群ではほとんど観察されなかったが、F群は表面から1-2 μm まで観察され、L-F群は表面から約5 μm まで観察されとくに2 μm 付近に高濃度で分布していた。L-F群のフッ素がF群より深く高濃度で分布していた原因として、1回目のレーザー照射で表面が溶岩状の変化をして微少な凹凸が生じ、表面積が増加したためAPF溶液が深部まで浸透しやすかったことなどが考えられる。

耐酸性試験では、1時間後のCa溶出量は、C群、L群、F群、L-F群の順に

少なくなっていき、L-F群は他の3群に対して有意差が認められた。各群のCa溶出量は、時間の経過とともに増加したが、3時間後、6時間後においてもL-F群が最も少なく、他の3群と有意差が認められた。Ca溶出抑制率も、6時間にわたりL-F群は抑制率が最も高く、L群とF群に対して有意差が認められた。

以上の結果から、Nd:YAGレーザー照射とフッ素塗布を歯周治療後の露出根面象牙質に応用することは、根面齲蝕予防法として臨床応用の可能性が高いと考えられる。しかし耐酸性向上のメカニズムは本研究の結果のみでは十分明かではなく、レーザー照射によって生じた溶岩状表面へのプラーク細菌の付着やフッ素の分布状態の経時的変化を含めて、さらなる検討を加え、歯周病患者の根面齲蝕の予防法として確立したいと考えている。

次いで本論文の内容とそれに関する項目について口頭による質問が行なわれた。申請者は、いずれの質問に対しても明快な回答を行い、関連分野についても広く詳細な理解があることが認められた。本研究は今後の高齢社会において増加が予想される根面齲蝕に対し、その予防法の確立に大いに貢献する研究であり、審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（歯学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。