

学位論文題名

レーザー照射とフッ化物塗布が  
歯根面象牙質表面に及ぼす影響

学位論文内容の要旨

【緒言】

歯周病治療の進歩に伴い、重度歯周病罹患歯も歯根露出の状態に積極的に保存する傾向にあるが、根面齲蝕及び知覚過敏が临床上の問題となってきた。一方、歯科領域においてレーザー照射が応用されるようになり、歯周病領域でも歯周ポケット内のレーザー照射や、歯石除去など歯根面にレーザー照射を行う研究がみられる。レーザー照射は、フッ化物との併用でエナメル質の耐酸性を向上させることが報告されているが、根面象牙質への影響を検討した報告はきわめて少ない。レーザー照射とフッ化物との比較あるいは併用が根面象牙質へどのような影響を及ぼすかを解明することはレーザーの臨床応用の基礎的資料として大きな意義があると思われる。

本研究は、Nd:YAGレーザー照射とフッ化物塗布を応用した場合の根面象牙質への影響を明らかにする目的で、走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察による形態的变化、電子プローブマイクロアナライザー (EPMA) によるフッ素分布分析、耐酸性試験、さらに *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) を用いた細菌付着性および表面硬度への影響を検討した。

【材料および方法】

1) 試験片

被験歯は、ウシ下顎前歯歯根 (SEM観察; 19本、EPMA分析; 9本、耐酸性試験; 36本、細菌付着試験; 9本、表面軟化試験; 7本) を用いた。試験片は、歯周治療後の口腔内に露出した直後の象牙質を想定し、キュレット型スクレーパーを用いて歯根膜とセメント質を除去した象牙質片を3×3×1.5mm (SEM観察用95個、EPMA分析用45個、耐酸性試験用540個、細菌付着試験用45個)、5×5×1.5mm (表面軟化試験用35個) の大きさに規格化した。

2) 実験群と表面処置方法

実験群を表面処置方法の違いによってC群 (無処置)、L群 (レーザー照射のみ)、F群 (フッ化物塗布のみ)、LF群 (レーザー照射後フッ化物塗布)、FL群 (フッ化物塗布後レーザー照射) の5群とした。歯科用レーザー装置は、パルス型Nd:YAGレーザー (Pulse Master 600 LE<sup>®</sup>、最大出力6W、波長1,064nm、光ファイバー先端径320

μm) を使用した。レーザー照射に際しては、照射前に墨汁を試験面に一層塗布した後に光ファイバー先端を試験面に近付け、動かしながら全体を平均的に5秒間照射した。レーザー照射(出力)条件は、耐酸性試験では、0.6~2.0Wまでの6条件とし、他の評価方法は1.2Wの条件を設定した。フッ化物塗布は酸性フッ素リン酸溶液(APF)を使用し、耐酸性試験は、2%APFを応用した場合(2%APF応用群)と4%APFを応用した場合(4%APF応用群)、8%APFを応用した場合(8%APF応用群)の3回行った。他の評価方法では2%APFを応用した。フッ化物塗布は4分間行った。

### 3) 評価方法

#### (1) SEM観察

形態的变化の観察は、表面処置直後と耐酸性試験直後に行った。

#### (2) EPMA分析

試験片中央を垂直に半切し、断面のカルシウム、リン、フッ素について線分析を行った。

#### (3) 耐酸性試験

各試験片を個別に5mlの酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液(pH4.2)中に浸漬し、37℃恒温槽で震盪を加えた。1時間後に脱灰液を採取し、原子吸光分析法によってカルシウム濃度を測定し、単位面積あたりのカルシウム溶出量を算出した。

#### (4) 細菌付着試験

*S.mutans*JC2株を $6.7 \times 10^8$ CFU/mlに調整し、菌液20μlを5%スクロース添加Brain Heart Infusion (BHI)培地 5.0mlに加え、37℃で24時間の好気培養を行い、培養後に20秒間超音波洗浄を加えて付着細菌を集菌し、BHI寒天培地に播種し、37℃で24時間の嫌気培養を行った後にコロニー数を計測した。

#### (5) 表面軟化試験

*S.mutans*JC2株を $5.6 \times 10^8$ CFU/mlに調整し、菌液50μlを5%スクロース添加BHI培地20mlに加え、37℃で48時間の好気培養を行った。細菌培養の前後で荷重25g、負荷時間30秒でヌープ圧子にて微少硬度の測定を行った。

統計学的分析は、分散分析とMann-WhitneyU-testを行い、有意水準は5%とした。

### 【結果および考察】

SEM観察より、表面処置直後のC群とF群は、比較的平坦な表面を呈し、象牙細管開口部が細い線状に認められた。L群、LF群、FL群は、いずれも表面はクラッカー状あるいは溶岩状を呈し、凹凸が著しかった。耐酸性試験直後は、表面処置直後に比べてC群、F群では象牙細管開口部の拡大傾向が認められたが、L群、LF群、FL群では明らかな変化は認められなかった。EPMA線分析では、F群、LF群、FL群は、いずれも試験面表面から約10μm前後までフッ素の分布が認められ、フッ素強度は、3群間で有意差は認められなかった。耐酸性試験では、各実験群のカルシウム溶出量は、2%~8%いずれのAPFを用いた場合でも、F群、LF群、FL群は、C群、L群に比べてカルシウム溶出量が有意に減少した。F群、LF群、FL群間では、有意差は認められなかった。また照射条件の違いによってもカルシウム溶出量に有意な差は認められなかった。これ

らより、レーザー照射によって、象牙質表面は多孔性の溶岩状の構造に変化し、被脱灰表面積が増加することでエナメル質で報告されているようなカルシウム溶出の抑制が有意に生じなかったのではないかと考えられる。フッ化物応用群では、APF塗布による脱灰によって生じたカルシウムイオンとフッ素イオンが反応して歯面表層にCaF<sub>2</sub>が形成され、それから徐々に放出されるフッ素によってフルオロアパタイトあるいはフルオロヒドロキシアパタイトが形成され、耐酸性が向上したと考えられる。レーザー照射とフッ化物塗布併用では、同様に耐酸性の向上が認められたが、フッ化物塗布による耐酸性効果が強いものと考えられる。

*S.mutans*付着性試験では、L群は最も付着細菌数が多く、F群は最も少なかった。LF群、FL群はC群と比較して有意な差を認めなかった。フッ化物応用によって象牙質表層に形成されたCaF<sub>2</sub>、あるいは、とりこまれたフッ素によって細菌の多糖体の合成が阻害され、プラーク細菌の付着を妨げた可能性が考えられる。レーザー照射のみでは、有意に付着細菌数が増加していたが、これはレーザー照射によって象牙質表層に溶岩状の変化が生じ、試験片表面積が増えたためと考えられる。

表面軟化試験では、培養前は各実験群間でヌープ硬さに有意差は認められなかった。培養後では、F群、LF群はC群と比較して有意にヌープ硬さが大きかった。また、L群はF群、LF群、FL群と比較して有意にヌープ硬さが小さかった。C群とL群では、有意な差は認められなかった。フッ化物を応用した実験群では、フッ素によって*S.mutans*の糖代謝が抑制され、酸産生抑制が起こったため歯質の軟化が抑制された可能性が考えられる。

以上より、フッ化物塗布は根面象牙質表層の耐酸性を増加させ、細菌付着性を減少させ、細菌による軟化を抑制させる作用があると考えられる。レーザー照射は表面形態を多孔性の溶岩状構造にし、細菌付着性を増加させるが、耐酸性への影響は少ないと考えられる。さらに、レーザー照射とフッ化物塗布の併用は、表面形態を同様の溶岩状構造に変化させるが、細菌付着性に変化を与えず、耐酸性を増加させ、細菌による軟化を抑制させる作用があると考えられる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 浪 雅 光  
副 査 教 授 亘 理 文 夫  
副 査 教 授 佐 野 英 彦

学 位 論 文 題 名

## レーザー照射とフッ化物塗布が 歯根面象牙質表面に及ぼす影響

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、申請者から以下のような内容について論述がなされた。

本研究は、Nd:YAG レーザー照射とフッ化物塗布を応用した場合の根面象牙質への影響を明らかにする目的で、走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察による形態的变化、電子プローブマイクロナライザー (EPMA) によるフッ素分布分析、耐酸性試験、さらに *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) を用いた細菌付着性および表面硬度への影響を検討した。

### 【材料および方法】

被験歯は、ウシ下顎前歯歯根を用い、試験片は、歯周治療後の口腔内に露出した直後の象牙質を想定し、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た象牙質片を 3×3×1.5mm (SEM 観察用 95 個、EPMA 分析用 45 個、耐酸性試験用 540 個、細菌付着試験用 45 個)、5×5×1.5mm (表面軟化試験用 35 個) の大きさに規格化した。実験群を表面処置方法の違いによって C 群 (無処置)、L 群 (レーザー照射のみ)、F 群 (フッ化物塗布のみ)、LF 群 (レーザー照射後フッ化物塗布)、FL 群 (フッ化物塗布後レーザー照射) の 5 群とした。歯科用レーザー装置は、パルス型 Nd:YAG レーザー (Pulse Master 600 LE®) を使用した。レーザー照射に際しては、照射前に墨汁を試験面に一層塗布した後に光ファイバー先端を試験面に近付け、動かしながら全体を平均的に 5 秒間照射した。レーザー照射 (出力) 条件は、耐酸性試験では、0.6~2.0W までの 6 条件とし、他の評価方法は 1.2W の条件を設定した。フッ化物塗布は酸性フッ素リン酸溶液 (APF) を使用し、耐酸性試験は、2% APF を応用した場合と 4% APF を応用した場合、8% APF を応用した場合の 3 回行った。他の評価方法では 2% APF を応用した。フッ化物塗布は 4 分間行った。試験片は、表面処置直後と耐酸性試験直後に SEM 観察を行った。フッ素分布分析は、カルシウム、リン、フッ素について EPMA 線分析を行った。耐酸性試験は、各試験片を個別に 5ml の酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 (pH4.2) 中に浸漬し、37℃恒温槽で震盪を加え、1 時間後に脱灰液を採取し、原子吸光分析法によってカルシウム濃度を測定し、単位面積あたりのカルシウム溶出量を算出した。細菌付着試験は、菌数調整した *S.mutans* JC2 株を 5% スクロース添加 Brain Heart

Infusion (BHI) 培地に加え、試験片をワイヤーで吊し、37℃で 24 時間の好気培養を行い、集菌後 BHI 寒天培地に播種し、37℃で 24 時間の嫌気培養後にコロニー数を計測した。表面軟化試験は、菌数調整した *S.mutans* JC2 株を 5% スクロース添加 BHI 培地に加え、試験片をワイヤーで吊し、37℃で 48 時間の好気培養を行った。細菌培養の前後で荷重 25g、負荷時間 30 秒でヌープ圧子にて微少硬さの測定を行った。

統計学的分析は、分散分析と Mann-Whitney-U-test を行い、有意水準は 5% とした。

#### 【結果および考察】

SEM 観察では、表面処置直後の C 群と F 群は、比較的平坦な表面を呈し、象牙細管開口部が細い線状に認められた。L 群、LF 群、FL 群は、いずれも表面は溶岩状を呈していた。耐酸性試験直後は、表面処置直後に比べて C 群、F 群では象牙細管開口部の拡大傾向が認められたが、L 群、LF 群、FL 群では明らかな変化は認められなかった。EPMA 線分析では、F 群、LF 群、FL 群は、いずれも試験面表面から約 10  $\mu$ m 前後までフッ素の分布が認められ、フッ素強度は、3 群間で有意差は認められなかった。耐酸性試験では、各実験群のカルシウム溶出量は、2%~8% いずれの APF を用いた場合でも、F 群、LF 群、FL 群は、C 群、L 群に比べて有意に減少した。F 群、LF 群、FL 群間では、有意差は認められなかった。また照射条件の違いによってもカルシウム溶出量に有意な差は認められなかった。*S.mutans* 付着性試験では、L 群は最も付着細菌数が多く、F 群は最も少なかった。LF 群、FL 群は C 群と比較して有意な差を認めなかった。表面軟化試験では、培養前は各実験群間でヌープ硬さに有意差は認められなかった。培養後では、F 群、LF 群は C 群と比較して有意にヌープ硬さが大きかった。また、L 群は F 群、LF 群、FL 群と比較して有意にヌープ硬さが小さかった。

以上の結果より、フッ化物塗布は根面象牙質表層の耐酸性を増加させ、細菌付着性を減少させ、細菌による軟化を抑制させる作用があると考えられる。レーザー照射は表面形態を多孔性の溶岩状構造にし、細菌付着性を増加させるが、耐酸性への影響は少ないと考えられる。さらに、レーザー照射とフッ化物塗布の併用は、表面形態を同様の溶岩状構造に変化させるが、細菌付着性に変化を与えず、耐酸性を増加させ、細菌による軟化を抑制させる作用があると考えられた。

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われた。

主な質問事項は、

- (1) 歯周病領域で使用されるレーザーの種類とその照射方法について
  - (2) レーザー照射による根面象牙質の表面形態の変化および耐酸性に及ぼす影響について
  - (3) フッ化物塗布による根面象牙質のフッ素分布および塗布方法による影響について
  - (4) レーザー照射とフッ化物塗布およびその併用が根面象牙質への細菌付着性、表面の硬さの変化に及ぼす影響について
  - (5) 観察結果と臨床的意義について
- であった。

申請者は、いずれの質問に対しても回答し、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、臨床における歯根面へのレーザー照射応用に際する基礎的資料として意義があり、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。