

鶴見大学大学院歯学研究科博士学位論文

内容の要旨および審査の結果の要旨

| | |
|-----------|---|
| 氏名(本籍) | 今村 武 浩 (岐阜県) |
| 博士の専攻分野 | 博士 (歯 学) |
| 学位記番号 | 甲 第 431 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 26 年 9 月 30 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 |
| 研 究 科 専 攻 | 鶴見大学大学院歯学研究科 (博士課程) 歯学専攻 |
| 学位論文題目 | Antibacterial and Antifungal Effect of 405-nm Monochromatic Laser on Endodontopathogenic Microorganisms (感染根管の原因菌に対する 405-nm レーザー光照射の抗菌および抗真菌効果) International Journal of Photoenergy 2014 巻 Article ID 837215 7 頁掲載 平成 26 年 5 月 5 日発行 |
| 論文審査委員 | 主査 教授 朝 田 芳 信 副査 教授 前 田 伸 子 副査 教授 里 村 一 人 |

内 容 の 要 旨

難治性の感染根管治療はさまざまな薬剤に耐性を持った細菌による長期の根管内の感染が大きな原因の 1 つである。難治性根管の原因菌として、最も良く知られているのは *Enterococcus faecalis* であるが、その他にも、代表的歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, また口腔カンジダ症の原因菌でもある *Candida albicans* も分離されるという報告がある。これらの微生物をコントロールすることは、難治性根管の新たな治療法・予防法の開発に繋がるものと考えられる。

光線力学療法 (Photodynamic Therapy : PDT) は癌の治療において導入され、腫瘍親和性光感受性薬剤と高エネルギー可視光を併用することにより光化学反応を惹起させ、癌細胞を変性、壊死させる治療法である。近年では、この PDT はさまざまな微生物に対しても応用されている。過去の研究で、405-nm の青紫色レーザー光が *P. gingivalis* の増殖を阻害するための最も効果的な波長であることが確認された。本研究ではこの波長のレーザー光照射装置を開発し、難治性感染根管から分離される *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *E. faecalis* および *C. albicans* に対するレーザー光の効果を検証し、新たな感染根管の治療法・予防法に応用しうる可能性につき検討した。

【材料および方法】

1. 405-nm のレーザー発光装置の開発
405-nm レーザー照射装置は laser diode を用いて製作した (長田電機株式会社, 東京, 日本)。出力は 0.05 W から 0.2 W の間で調整可能とし、レーザー照射装置先端はテーパ状でアクリル樹脂製であり、最先端の直径は 50 μm とした。
2. 対象菌種
P. gingivalis (ATCC33277), *P. intermedia* (ATCC25611), *E. faecalis* (ATCC19433), *C. albicans* (ATCC18804) の 4 菌種を対象とした。
3. 405-nm レーザー光の照射
各対象菌種を液体培地にて培養後、マイクロピペットで 10 μl 採取し、照射装置の先端をマイクロチップ内の菌液中に挿入し、出力・照射時間のさまざまな条件にてレーザー光を照射した。
4. 増殖抑制効果の評価

レーザー照射後、全菌液を回収して *P. gingivalis* および *P. intermedia* は血液寒天培地、*E. faecalis* は TSA (Trypase Soy Agar) 寒天培地、*C. albicans* はサブロー寒天培地にそれぞれ播種し、37℃で48時間培養後、CFU (colony forming units) を計測することによって評価した。

【結 果】

1. 405-nm のレーザー照射装置の特性

開発したレーザー照射装置は正確に405-nmの単波長を照射していることが確認された。直径の形状は菌内治療や菌周治療に応用可能であると考えられた。

2. 405-nm のレーザー光の各菌種への効果

P. gingivalis に対しては、照射時間300秒として、出力0.05 Wでは有意な効果は認めなかったものの、0.1 W、0.15 Wで約50%の有意な増殖抑制効果を認めた。さらに、0.2 Wでは約60%の有意な効果が認められた。*P. intermedia* に対しては、同じく照射時間300秒として、出力0.5 Wで約50%、0.1 Wで約70%、0.15 W、0.2 Wで約80%の出力に応じた効果を認めた。*E. faecalis* に対しては、出力・照射時間のいずれの条件下でも効果は認めなかった。*C. albicans* に対しては出力を0.2 Wとして、照射時間300秒(熱量60 J)では効果は認められなかったものの、600秒(熱量120 J)で約60%、1,200秒(熱量240 J)で約90%の効果がそれぞれ認められた。

3. 照射チップ先端の温度

得られた増殖抑制効果が、照射チップ先端から放出される熱によって引き起こされた可能性があるため検討を加えた。その結果、照射先端部の温度は照射前室温である23.2℃であったが、照射1分後で29.8℃となり、10分後で28.5℃を示し、その後は照射時間を延長しても温度上昇は認めなかった。このことから、得られた効果は、チップ先端からの発熱によるものではないことが示された。

【考 察】

難治性の感染根管はさまざまな細菌や真菌の感染が複雑に絡みあって起こるのが原因の1つであるが、本疾患の従来からの治療法は、機械的あるいは化学的な方法にとどまっており、それらの治療法の限界を突破する新たな低侵襲の治療法の開発が望まれている。

我々の以前の研究では、405-nmレーザー光単独で光増感剤を使用せずに *P. gingivalis* の増殖を抑制することを示した。これは405-nmレーザー光は感染根管や菌周病の病変から *P. gingivalis* を除菌するために有効な手段であることを示している。この結果に基づき本研究では感染根管治療に適した形状の405-nmレーザー光照射装置を開発し、難治性の感染根管の原因菌への効果を検討した。

本研究結果より、本装置を用いた405-nmのレーザー光照射は難治性の感染根管の原因菌である *P. gingivalis*、*P. intermedia* および *C. albicans* に対して有意な殺菌効果を有することが示された。一方、*E. faecalis* に対しては有意な効果は認められなかった。

本研究では、405-nmのレーザー光照射の菌種による効果の違いの詳しいメカニズムは明らかにはされていない。1つの可能性として405-nmに感受性のある物質が菌体内に存在し、それが内在性の光増感剤として作用していることが考えられる。菌種による効果の違いは菌体内のこの物質やまたはこれに類似した物質の濃度の違いによるものではないかと考えられる。*P. gingivalis* などの黒色素産生細菌を用いた研究では菌体内のポルフィリンが光感受性物質として作用する可能性が報告されている。

本研究結果より405-nmのレーザー光照射が難治性の感染根管治療の代替戦略になりうる可能性が示された。

【ま と め】

405-nmのレーザー光照射が *P. gingivalis*、*P. intermedia* および *C. albicans* に対して有意な殺菌効果を有することが示された。この405nmのレーザー光を用いた光線力学療法は、新たな難治性根管の予防法・治療法なることが示唆された。

審査の結果の要旨

光線力学療法 (Photodynamic Therapy : PDT) は癌の治療において導入されているが、歯科領域でも405-nmの青紫色レーザー光が *Porphyromonas gingivalis* の増殖を阻害するとの報告がある。そこで、本研究は難治性感染根管から分離される *P. gingivalis*、*Prevotella intermedia*、*Enterococcus faecalis* および *Candida albicans* に対する405-nmレーザー光の増殖抑制効果を検証することを目的に行った。

405-nm レーザー照射装置は laser diode を用いて製作し、出力は 0.05 W から 0.2 W の間で調整可能とし、レーザー照射装置先端はテーパ状でアクリル樹脂製であり、最先端の直径は 50 μm とし、臨床応用を想定した仕様とした。レーザー光照射後、全菌液を回収して対象菌種に対応した培地にて培養後、CFU (colony forming units) を計測することによって評価した。

405-nm レーザー光の効果については、*P. gingivalis* では、照射時間 300 秒として、出力 0.05 W では有意な効果は認めなかったものの、0.1 W、0.15 W で約 50% の有意な増殖抑制効果を認めた。さらに、0.2 W では約 60% の有意な効果が認められた。*P. intermedia* では、同じく照射時間 300 秒として、出力 0.5 W で約 50%、0.1 W で約 70%、0.15 W、0.2 W で約 80% の出力に応じた効果を認めた。*E. faecalis* に対しては、出力・照射時間のいずれの条件下でも効果は認めなかった。*C. albicans* に対しては出力を 0.2 W とし、照射時間 300 秒 (熱量 60 J) では効果は認められなかったものの、600 秒 (熱量 120 J) で約 60%、1,200 秒 (熱量 240 J) で約 90% の効果がそれぞれ認められた。

本研究結果より、本装置を用いた 405-nm のレーザー光照射は口腔感染症の原因菌である *P. gingivalis*、*P. intermedia* および *C. albicans* に対して有意な増殖抑制効果を示すことがわかった。一方、*E. faecalis* に対しては有意な効果は認められなかった。

菌種による増殖抑制効果の違いが生じた原因については不明な点が多いが、1つの可能性として 405 nm という波長に感受性のある物質が菌体内に存在することが考えられ、増殖抑制効果の高い菌種では内在性の光増感剤として作用していることが推察された。

405-nm のレーザー光照射により *P. gingivalis*、*P. intermedia* および *C. albicans* に対して明らかな増殖抑制効果が認められたことから、光線力学療法は口腔感染症の予防および治療に有用であることが示唆された。本研究の成果は口腔内科学の進歩に寄与するところ大であり、博士 (歯学) の学位を請求する価値が十分にあるものと判定した。