特 集

テーマ：レーザーによる硬組織切削

Er,Cr:YSGG レーザーを用いた窩洞形成とコンポジットレジン修復

新 海 航 一

日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

(受付：2016年9月26日，受理：2016年11月7日)

Cavity Preparation with Er,Cr:YSGG Laser and Composite Resin Restoration

Koichi SHINKAI

Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

(Received: September 26, 2016, Accepted for Publication: November 7, 2016)

Abstract: We have examined the mechanism of laser cutting for enamel and dentin, the effect of the ratio of water to air in the water spray on the efficiency of laser cutting, SEM analysis of laser-cut tooth surface and its alteration after applying various adhesive systems, the effect of various adhesive systems on the bond strength of composite resin to laser-cut enamel or dentin, the adaptation of composite resin to laser-prepared cavities, and the effect of laser preparation and adhesive system on pulp reaction using an erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet (Er,Cr:YSGG) laser. From these studies, the following results were obtained. High-speed camera observation clarified that micro-phreatic explosion occurred on the tooth surface during laser irradiation. The ratio of water to air in the spray influenced the efficiency of the laser cutting for dentin. A thin heat denaturation layer was observed on the surface of the dentin prepared with the laser, but this layer disappeared after application of both 40% phosphoric acid and 10% sodium hypochlorite. Pre-conditioning using phosphoric acid or both phosphoric acid and sodium hypochlorite was effective in improving the bond strength of two-step self-etch adhesive system to both enamel and dentin prepared with the laser. Pretreatment of the cavity prepared with the laser using phosphoric acid or sodium hypochlorite did not affect the dental pulp healing of rat tooth.

(J. Jpn. Soc. Laser Dent. 27 : 111 ~ 119, 2016 Reprint requests to Dr. SHINKAI)

Key words = Er,Cr:YSGG laser, cavity preparation, composite resin restoration

キーワード = Er,Cr:YSGG レーザー，窩洞形成，コンポジットレジン修復

はじめに

歯の切削をはじめ歯冠修復治療への歯科用レーザーの応用に関する研究が，国内外で数多く報告されている。レーザー切削は無痛切削が可能のため，修復治療への貢献度を期待されて平成20年4月より歯科医療保険にも収載された。しかし，歯の切削が可能とされている歯科用レーザーで，国内で認可されたもの（炭酸ガスレーザー，Er:YAGレーザー）は，エアタービンと比較して歯の切削効率がかなり低い^{1,2)}ので，広く利用されているとはいえない。

一方，国外で開発されたEr,Cr:YSGGレーザーは，エア

タービンに匹敵する切削効率が発揮できる³⁾といわれ，国外では歯の切削に普及されつつあるが，このEr,Cr:YSGGレーザー装置は厚労省認可がまだ得られていない。

当講座では，Er,Cr:YSGGレーザー装置であるWaterlase® MD (Biolase)を設置し，その高い切削効率を確認しているが，国内におけるEr,Cr:YSGGレーザーに関する基礎的研究報告は少なく，国外においてもいまだ十分とはいえない。このレーザーは高い切削効率を発揮できることから，将来国内でも広く普及して修復治療に大きな貢献をもたらすことが予想される。したがって，Er,Cr:YSGGレーザーを用いた新しい接着修復法を確立することは非常に有意義

であると考ええる。

Er,Cr:YSGG レーザーの波長は 2,940nm で Er:YAG レーザーの波長 (2,780nm) と近似しており、これらの波長は水の吸収ピークとほぼ一致するために、レーザーエネルギーがハイドロキシアパタイト水和殻の水分子に吸収されることにより微小爆発が生じ、歯質が粉碎されるといわれている。しかし、Er,Cr:YSGG レーザーは、ハイドロキネティックス (微小水蒸気爆発) 理論^{3,4)} によって注水下でエナメル質および象牙質を効率的に切削することが可能である。しかし、その詳細な切削メカニズムはいまだ不明な点が多く、非接触であるが故に回転切削と比べて窩洞形成のコントロールが非常に難しい。また、レーザー切削した象牙質に対しては修復物の接着が不十分だという研究報告が多く^{5,6)}、いまだ有効な接着方法が確立されていない。さらに、Er,Cr:YSGG レーザーで切削される象牙質は、レーザーの発熱作用により温度上昇するために歯髄への為害性が危惧される一方、LLLT による歯髄鎮静効果が期待される。しかしながら、Er,Cr:YSGG レーザーを用いたコンポジットレジン修復に関して歯髄反応を検討した研究はほとんどみられない。

そこで、我々はこれらの問題点について多角的に検討し、Er,Cr:YSGG レーザーを用いたコンポジットレジン修復の術式を確立することを目的に基礎的な研究を続けている。本稿では、これまでの研究から明らかになった点についてその概要を報告する。なお、1～6) の研究は日本歯科大学新潟生命歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った (許可番号: ECNG-H-9)。また、7) の研究は日本歯科大学新潟生命歯学部動物実験倫理委員会の承認を得て行った (承認番号: 155)。

1) Er,Cr:YSGG レーザーによるエナメル質および象牙質の切削メカニズムについて

材料と方法

(1) ヒト抜去大白歯からエナメル質片 (小柱方向に垂直あるいは平行な平面を有する厚さ約 2 mm の歯片) ならびに象牙質片 (象牙細管方向に垂直あるいは平行な平面を有する厚さ約 2 mm の歯片) を作製した。

(2) 作製した歯片を Er,Cr:YSGG レーザー (Waterlase MD, Biolase technology, YSGG と略す) を用いて切削し、切削時の状況をハイスピードビデオカメラ (動き解析マイクロスコープ) で撮影した。PC 上でビデオクリップ画像を観察し、レーザー光、ウォータースプレーおよびエナメル質あるいは象牙質の相互作用のモニタリングを行って YSGG の切削メカニズムを分析した。

結 果

レーザー切削では適度な比率のウォータースプレーが必要であるが、撮影時にウォータースプレーによる水滴がレ

図 1 微小水蒸気爆発の瞬間

ンズ表面に付着したため、明瞭な画像を得るのは非常に困難であった。そこで、できるだけウォータースプレー中の水の配合率を低く抑えた (4.0W/60%Air/40%Water) 結果、比較的明瞭な画像 (50 倍) が得られた。撮影した画像をモニタリング (フレームレート: 250) により分析した結果、ウォータースプレーとともにレーザー光が照射された歯面が白く光った瞬間に、水が周囲に拡散することが判明した (図 1)。したがって、このモニタリング分析は、ウォータースプレーとともに YSGG のレーザー光が照射されるとエナメル質では小柱間、象牙質では基質内で微小水蒸気爆発が生じて破壊・切削が生じるというハイドロキネティックス (微小水蒸気爆発) 理論を支持する結果となった。

2) YSGG の切削条件が歯質切削に及ぼす影響

材料と方法

(1) ヒト抜去上顎前歯から歯片 (約 5×5×3 mm) を作製し、耐水研磨紙 #600, #800 および #1500 を用いて平坦なエナメル質あるいは象牙質面を形成した (n = 10)。

(2) YSGG を用い、エナメル質の場合 3.0W・20Hz、象牙質の場合 2.0W・20Hz の出力で、各切削条件 (ウォータースプレー中の空気と水の相対的配合率: 表 1) に従って切削した。切削面に対する照射光の入射角度は 90 度、照射距離は 3 mm に設定し、各々切削条件を変えながら各歯片の平坦面において 9 箇所を約 1 秒間ずつ切削した。各切削時の状況をハイスピードビデオカメラで撮影し、ビデオクリップ画像上でモニタリングを行い、切削中に生じた水蒸気爆発の回数 (pulse 数) をカウントした。

(3) 切削されたエナメル質の深さを表面粗さ測定器 (Surfcom 470A, 東京精密) で測定した。

(4) 得られた結果から 1 Hz あたりの切削深さを算出した。対応のある 2 元配置分散分析を用いて統計学的解析を

表 1 ウォータースプレー中の空気と水の相対的配合率を変えた実験群の設定

実験群	エナメル質		象牙質	
	Air (%)	Water (%)	Air (%)	Water (%)
Group 1	70	60	50	60
Group 2	70	70	50	70
Group 3	70	80	50	80
Group 4	80	60	60	60
Group 5	80	70	60	70
Group 6	80	80	60	80
Group 7	90	60	70	60
Group 8	90	70	70	70
Group 9	90	80	70	80

表 2 1 Hz 当たりの切削深さ

実験群	切削深さ (Mean $\pm$ SD, μ m)	
	エナメル質	象牙質
Group 1	10.4 $\pm$ 2.7	9.8 $\pm$ 2.2
Group 2	10.5 $\pm$ 3.3	9.5 $\pm$ 1.5
Group 3	9.8 $\pm$ 2.6	9.4 $\pm$ 1.6
Group 4	9.2 $\pm$ 2.5	9.3 $\pm$ 2.1
Group 5	9.7 $\pm$ 1.2	8.6 $\pm$ 1.5
Group 6	8.5 $\pm$ 1.2	8.4 $\pm$ 1.9
Group 7	9.6 $\pm$ 2.8	8.0 $\pm$ 1.2
Group 8	10.2 $\pm$ 3.5	8.1 $\pm$ 1.7
Group 9	9.9 $\pm$ 3.5	8.5 $\pm$ 1.6

行い、ウォータースプレーの水と空気の相対比率が切削深さに与える影響について有意差を検定した ($p < 0.05$)。

結 果

各実験群の測定結果を表 2 に示す。

①エナメル質の切削に及ぼす影響

二元配置分散分析の結果、ウォータースプレーの水と空気の各相対比率は切削深さに有意な効果を与えないことが判明した ($p > 0.05$)。したがって、レーザーの照射出力を 3.0W、20Hz とし、ウォータースプレーの水の相対比率を 60～80%、空気の相対比率を 70～90% の範囲に設定した場合、これらの切削条件はエナメル質の切削効率に有意な影響を及ぼさないとと思われる。

②象牙質の切削に及ぼす影響

二元配置分散分析の結果、ウォータースプレーの空気の相対比率が切削深さに有意な効果を与えることが明らかとなった ($p < 0.05$)。したがって、レーザーの照射出力を 2.0W、20Hz とし、ウォータースプレーの水の相対比率を 60～80%、空気の相対比率を 50～70% の範囲に設定した場合、空気の相対比率は象牙質の切削効率に有意な影響を及ぼし、空気の相対比率が高いほど切削効率が低くなる傾向が認められた。

3) YSGG を用いたエナメル質切断面と象牙質切断面の性状分析⁷⁾

材料と方法

(1) 1)-(1) に準じて調整したエナメル質片および象牙質片を YSGG を用いて切削し、観察用試料を作製した。

(2) レーザー照射条件は、エナメル質：3.5W、Water 75%、Air 85%、20Hz (0.175J/pulse, 87.5J/cm²/pulse)、象牙質：2.0W、Water 75%、Air 60%、20Hz (0.1J/pulse, 50.0J/cm²/pulse) とし、チップ先端から 3～5 mm の照射距離で焦点位を保つように切削した。

(3) 走査電子顕微鏡 (SEM) により切断面の微細形態

図 2 YSGG によるエナメル質切断面

を観察した ($\times 300 \sim 2,000$)。

(4) アザン染色により切削試料の薄切片を染色して光顕観察を行い、レーザー照射による熱変性層の生成状態について組織学的に検討した。

結 果

SEM 観察の結果、窩洞形成直後のエナメル質切断面にはエナメル小柱が分離、露出した像と一部のエナメル小柱が溶融したような像が認められた (図 2)。また、象牙質切断面では開口した象牙細管が認められ、スミヤー層は観察されなかった (図 3)。アザン染色により YSGG 切断面には熱変性層の存在が確認された (図 4)。

4) 接着歯面処理による YSGG 切断面の性状変化⁷⁾

材料と方法

3) と同様の照射条件で切削したエナメル質および象牙質面を以下に示す 3 種類の歯面処理方法で処理し、3) と同様の方法で表面性状を分析した。とくに熱変性層の除去ならびに脱灰層生成状態について詳細な観察を行った。

歯面処理方法

(1) 40% リン酸水溶液 (K-etchant, Kuraray Noritake Dental, 以下 40% リン酸と略す) 30 秒間処理→水洗・乾燥

図 3 レーザーによる象牙質切削面

図 6 40%リン酸処理後の象牙質切削面

図 4 象牙質切削面に生成された熱変性層(赤染部, アザン染色)

図 7 40%リン酸処理後に10%NaClO処理を行ったエナメル質切削面

図 5 40%リン酸処理後のエナメル質切削面

(2) 40%リン酸 30 秒間処理→水洗・乾燥→10%次亜塩素酸ナトリウム (AD Gel, Kuraray Noritake Dental, 以下 10%NaClO と略す) 90 秒間処理→水洗・乾燥

(3) 2 ステップ型セルフエッチシステム (Clearfil Mega Bond, Kuraray Noritake Dental, 以下 MB と略す) プライマー (MB プライマーと略す) 20 秒間処理→強圧エアブロー

結 果

40%リン酸処理 (30 秒間) 後のエナメル質切削面は鱗片状エナメル小柱と微細な凹凸を呈し (図5), 象牙質切削面では象牙細管が漏斗状に開口していた (図6)。40%リン酸処理 (30 秒間) 後に 10%NaClO 処理 (90 秒間) を行ったエナメル質切削面は, 40%リン酸処理後と類似しており (図7), 象牙質面では管周象牙質が突出している像がみられた (図8)。MB プライマー処理 (20 秒間) 後のエナメル質面は微細な凹凸を呈し (図9), 象牙質面では管周象牙質がわずかに突出している像がみられた (図10)。レーザー切削により象牙質面に生成された熱変性層は, リン酸処理および MB プライマー処理では除去されなかったが, 40%リン酸処理後に 10%NaClO 処理を行った場合に除去された (図11)。

5) YSGG を用いて切削したエナメル質および象牙質に対する接着強さの測定⁸⁻¹⁰⁾

材料と方法

(1) ヒト抜去大白歯の頬・舌側面に平坦なエナメル質面

図 8 40%リン酸処理後に10%NaClO処理を行ったエナメル質切断面

図 11 40%リン酸処理後に10%NaClO処理を行った象牙質切断面（アザン染色）

図 9 MBプライマーで処理したエナメル質切断面

図 10 MBプライマーで処理した象牙質切断面

表 3 レーザー切削したエナメル質および象牙質に対する接着強さ

実験群	接着強さ (Mean $\pm$ SD, MPa)	
	エナメル質	象牙質
M	20.8 $\pm$ 2.5	21.8 $\pm$ 4.9
EM	25.8 $\pm$ 1.7	40.7 $\pm$ 6.3
ENM	23.1 $\pm$ 3.3	39.0 $\pm$ 10.0
NC	17.3 $\pm$ 3.8	22.0 $\pm$ 11.0
PC	18.3 $\pm$ 4.9	52.7 $\pm$ 8.7

- ① M 群：MB を応用
- ② EM 群：40%リン酸処理後，MB を応用
- ③ ENM 群：40%リン酸処理後，さらに10%NaClOで処理した後，MB を応用
- ④ NC 群：MB のボンドのみを応用（ネガティブコントロール）
- ⑤ PC 群：#600 耐水研磨紙で形成した平坦面にMBを応用（ポジティブコントロール）

なお，MB の応用は，プライマー処理（20 秒間）→エアブロー→ボンド塗布→エアブロー→光照射（10 秒間）の手順で行い，処理面に光重合型コンポジットレジン（Clearfil Majesty, Kuraray Noritake Dental）を築盛して試料を作製した。

（3）接着強さの測定：小型卓上試験機（EZ Test, Shimadzu）を用いてエナメル質については剪断接着強さを，象牙質については微小引張り接着強さを測定した。一元配置分散分析と Tukey HSD による多重比較検定を行って実験群間の有意差を統計学的に検定した。

結 果

測定結果を表 3 に示す。

①エナメル質に対する接着強さについて

一元配置分散分析の結果，各実験群の間に有意差が認

あるいは象牙質面を形成し，それらの平坦面表層を YSGG で一層削除した。

（2）切断面の接着処理：下記の 5 実験群を設定し，接着試料を作製した。

められ、Tukey HSD による多重比較検定では、EM 群と ENM 群が他の実験群より有意に高い接着強さを示した ($p < 0.05$)。すなわち、リン酸エッチング単独あるいはリン酸エッチングと次亜塩素酸ナトリウム処理の併用による前処理法は、YSGG で切削したエナメル質面に対する MB の接着強さを向上させたといえる。また、M 群が PC 群 (#600 耐水研磨紙による切削面を被着面に用いた実験群) よりやや高い接着強さを示したが有意差はみられなかったことから、2 ステップ型セルフエッチシステムを用いた場合、エナメル質の接着強さにおいてレーザー切削の影響はみられなかったと推察される。さらに、セルフエッチングプライマーを応用せずボンディング材のみを使用した NC 群が PC 群と有意差を示さなかったことから、レーザー切削によりエナメル質に生じた微細な凹凸が接着強さの向上に効果をもたらしたと考えられる。

②象牙質に対する接着強さについて

NC 群と M 群は EM 群と ENM 群と比較して有意に低い接着強さを示した ($p < 0.05$)。NC 群と M 群の間ならびに EM 群と ENM 群の間には接着強さに統計学的有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。また、PC 群の接着強さは、他の実験群 (レーザー切削面を被着面に用いた実験群) と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。したがって、YSGG で切削した象牙質に対する接着強さは、MB 単独応用と比較し、リン酸エッチングによる前処理を行うことで有意に向上することが明らかとなった。4) の実験結果から熱変性層は EM 群で残存し、ENM 群では除去されることが判明している。しかし、両群の象牙質接着強さは同程度であり有意差がなかった結果から、熱変性層の有無は象牙質接着強さに影響しないことが推察される。一方、レーザー切削した象牙質に対するいずれの接着処理も、耐水研磨紙で形成した象牙質に対する MB の接着強さより有意に低かったことから、今後もレーザーで切削した象牙質に対する接着システムの検討が必要と思われる。

6) レーザー切削窩洞・コンポジットレジン修復物の 辺縁封鎖性および窩壁適合性の評価¹¹⁾

材料と方法

(1) YSGG を用い、ヒト大白歯の頬側面と舌側面に、直径 3 mm、深さ 2 mm の窩底隅角の滑らかな椀型窩洞を形成した。なお、3) と同様の照射設定でレーザー切削を行った。また、コントロールについては、エアタービンハンドピースに球状ダイヤモンドポイント (FG#440SS, Shofu) を装着し注水下にて同サイズの窩洞を形成後、スチールラウンドバー (CA#2, Kavo Dent GmbH) で窩壁を薄く一層削除した。

(2) 5)-(2) と同じ実験群を設定し、同様の方法で窩洞を接着処理した後、象牙質面にフロアブルレジン (Clearfil

表 4 レーザー切削窩洞・コンポジットレジン
修復物の窩壁不適合度

実験群 (n = 10)	窩壁不適合度 (Mean ± SD, %)	色素が侵入した 試料数
M	15.7 ± 11.4	10
EM	7.1 ± 9.9	5
ENM	5.8 ± 8.0	4
NC	81.6 ± 13.9	10
PC	1.4 ± 2.2	4

Majesty LV, Kuraray Noritake Dental) を約 1 mm の厚さで充填、光照射 (40 秒間) を行った。次いで、Clearfil Majesty を積層充填し、再度光照射 (40 秒間) を行い、試料を完成した。

(3) 循環式電子冷熱装置 (Toyo Engineering Works) とパーコテスター (Wada Seimitsu) を組み合わせた装置を用いて 5℃ ↔ 55℃ のサーマルストレスを 500 回試料に与えた。なお、各層の浸漬時間は 30 秒間で、水槽間の移動時間は 5 秒間とした。

(4) 窩壁適合性の観察: アイソメット (Buehler) を用いて各窩洞を歯軸方向に縦断した後、切断面に 1.0% アシッドレッドプロピレングリコール溶液 (Caries Detector, Kuraray Noritake Dental) を数滴滴下、5 秒間放置後十分に水洗乾燥した。染色された切断面は実体顕微鏡 (EZ4 D, Leica) を用いて 20 倍で観察し、デジタル画像で記録した。

(5) 窩壁適合性の評価: 象牙質の窩壁不適合度 (色素侵入度) については、画像解析ソフト (Image-Pro Express, Planetron) を用いて象牙質窩壁全周の長さとして色素侵入した窩壁の長さを測定し、色素侵入した窩壁の長さの象牙質窩壁全周に対する百分率を算出して評価した。結果は Kruskal-Wallis Test と Mann-Whitney U-test with Bonferroni correction で統計処理を行った。

結 果

窩壁不適合度を表 4 に示す。窩洞縦断面の代表的な実体顕微鏡写真を図 12 に示す。窩壁不適合度は PC 群 (エアタービン・ダイヤモンドポイント使用群) が最も低い値を示した。EM 群と ENM 群は PC 群と比較して統計学的有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。K-etchant Gel や AD Gel を併用しない NC 群と M 群の窩壁不適合度は、PC 群と比較して統計学的に有意に高く ($p < 0.05$)、これらすべての試料に色素侵入を認めた。なお、すべての実験群でエナメル質への色素侵入は認められなかった。したがって、YSGG で形成した窩洞におけるコンポジットレジン修復の窩壁適合性は、セルフエッチシステム応用前にリン酸エッチングを併用することで有意に改善されることが明らかとなった。

7) レーザー切削窩洞をコンポジットレジン修復した ラット歯の歯髄反応¹²⁾

材料と方法

(1) 8～9 週齢の雄性 SD 系ラットの上顎第一臼歯近心咬頭部に YSGG を用いて窩洞形成を行った。レーザーの照射距離はチップ先端から約 1.5mm とし、照射条件は予備実験の結果から、ラットの歯の形成に適した 40Hz, Water 30%, Air 50% に設定し、出力はエナメル質で 2.5W, 象牙質で 2.0W とした。

(2) 実験群の設定と各実験群の接着方法：

Group 1：MB を用いてメーカー指示に従い処理後、10 秒間光照射を行った。

Group 2：40% リン酸を用いて 30 秒間処理後に水洗乾

燥し、MB を用いて処理後、10 秒間光照射を行った。

Group 3：40% リン酸で 30 秒間処理後に水洗乾燥、次に 10% NaClO で 90 秒処理後に水洗乾燥、さらに MB を用いて処理後、10 秒間光照射を行った。

Group 4：1 ステップ型セルフエッチシステム (Tri-S bond ND Quick, Kuraray Noritake Dental) を塗布後にエアブローし、10 秒間光照射を行った。各種接着システムを応用した後、Clearfil Majesty LV を填塞した。

Control：歯面処理を行わず、グラスアイオノマーセメント (Fuji VII, GC) を填塞した。

(3) 修復処置を行ってから 24 時間あるいは 14 日間の観察期間を経た後、4% PFA 溶液による経心的灌流固定を行い屠殺した。

(4) 摘出試料は 10% EDTA 溶液による脱灰後、通法に従ってパラフィン包埋を行い、連続薄切切片を作製し、H-E 染色とグラム染色を施し、歯髄組織の変化 (PTD)、炎症性細胞浸潤 (ICI)、第三象牙質の形成 (TDF) および細菌侵入 (BP) について各々 4 段階 (なし、軽度、中等度、重度) で病理組織学的評価を行った。さらに免疫組織化学染色 (酵素抗体法：HSP25, 蛍光抗体法：MMP3, CD146) を施し、免疫組織学的に歯髄反応を評価した。

(5) 得られたデータは評価項目ごとに、Kruskal-Wallis test を用いて実験群間について、また Mann-Whitney U test を用いて観察期間についてそれぞれの有意差を統計学的に検定した。

結 果

歯髄反応の病理組織学的評価結果を表 5 に示す。いずれの実験群も修復処置を行ってから 24 時間後の試料では、

図 12 窩洞縦断面の代表的な実体顕微鏡写真
左：NC 群の試料で窩壁不適合度は 100%
右：PC 群の試料で窩壁不適合度は 0%

表 5 歯髄反応の病理組織学的評価結果

評価項目	実験群	24 時間後				14 日後			
		なし	軽度	中等度	重度	なし	軽度	中等度	重度
PTD	Group 1	2	4	0	0	6	0	0	0
	Group 2	4	1	1	0	5	0	1	0
	Group 3	0	4	2	0	6	0	0	0
	Group 4	0	3	3	0	6	0	0	0
	Control	1	3	2	0	6	0	0	0
ICI	Group 1	5	1	0	0	6	0	0	0
	Group 2	5	1	0	0	6	0	0	0
	Group 3	3	3	0	0	6	0	0	0
	Group 4	2	3	1	0	6	0	0	0
	Control	4	2	0	0	5	0	1	0
TDF	Group 1	6	0	0	0	3	0	1	2
	Group 2	6	0	0	0	2	0	4	0
	Group 3	6	0	0	0	2	0	2	2
	Group 4	6	0	0	0	0	0	5	1
	Control	6	0	0	0	1	1	2	2

図 13 修復 24 時間後の代表的な歯髄所見 (HE 染色)
窩底部直下の象牙細管の走行に沿った象牙芽細胞層において比較的大きな水腫 (*) を認める。

図 14 修復 14 日後の代表的な歯髄所見 (HE 染色)
窩底部直下の象牙細管の走行に沿った象牙芽細胞層の部位に修復象牙質の形成 (*) を認める。

図 15 修復 24 時間後の試料の免疫組織化学染色所見
窩洞の象牙細管の走行に沿った象牙芽細胞層において HSP25 と CD146 に対する強い陽性反応が認められる (矢印部分)。a: HE, b: HSP25, c: CD146, d: DAPI + CD146

窩底部直下の象牙細管の走行に沿った象牙芽細胞層において象牙芽細胞の消失や配列不正そして比較的大きな水腫を認め、歯髄内に若干の炎症性細胞浸潤も認められた (図 13)。しかし、14 日後の試料では、象牙芽細胞層の変化と炎症性細胞浸潤は消失し、窩底部直下の象牙細管の走行に

沿った部位に修復象牙質の形成が観察された (図 14)。また、レーザー切削された象牙質面にはエオジン好染の熱変性層を認めた。統計分析の結果、いずれの観察期間においてもすべての評価項目で実験群間の有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。また 24 時間後と 14 日後を比較する

と、PTD と ICI の評価項目では Group 1, Group 3 および Group 4 において有意差を認め ($p < 0.05$), TDF の評価項目ではすべての実験群において有意差を認めた ($p < 0.05$)。したがって、歯髄はレーザー切削による熱刺激の影響を受けて象牙芽細胞層に軽度～中程度の変化が生じるが、Control と同様にいずれの接着システムにおいても時間の経過とともにそれらの変化は消失し、治癒する傾向があることが示唆された。

免疫組織化学染色を行った 24 時間後の試料では、髄角部の細胞、窩洞の象牙細管の走行に沿った象牙芽細胞層あるいは水腫の周囲にある細胞において HSP25, MMP3 および CD146 に対する強い陽性反応が認められた (図 15)。14 日後の試料では、髄角部の細胞あるいは修復象牙質の周囲の細胞において HSP25, MMP3 および CD146 に対する陽性反応が認められたが、それらの反応は 24 時間後に比べて弱いものであった。観察期間ごとでは、各実験群間に顕著な差は認められなかった。したがって、創傷治癒過程における HSP25, MMP3 ならびに CD146 陽性細胞の存在は、組織損傷後の炎症制御や歯髄幹細胞からの象牙芽細胞様細胞の分化あるいは血管新生などが生じ、その結果修復象牙質を形成しながら歯髄は治癒していく可能性を示唆している。以上を総括すると、YSGG を用いて窩洞形成したラット歯の歯髄は、形成直後に象牙芽細胞層の変化 (象牙芽細胞の消失、配列不正、水腫形成など) や軽度の炎症性細胞浸潤が生じたが、本研究で設定したいずれの接着システムにおいても、コントロールと同様に 14 日後では修復象牙質の形成とともに治癒していた。

ま と め

YSGG を用いた窩洞形成とコンポジットレジン修復に関して当講座で行ってきた一連の基礎研究結果から、臨床応用に際し示唆されるいくつかの点が明らかとなった。YSGG を用いた歯質の切削は、微小水蒸気爆発による連続的な微小歯質破壊の結果生じるものであり、ウォーターズプレーの水と空気の相対比率は、エナメル質より象牙質に対する切削効率に影響を及ぼすため、齶窩の開拓後における象牙質切削については相対比率の調整に注意が必要である。また、感染象牙質の除去にレーザーを適切に応用するには、今後、詳細な検討が必要と思われる。レーザー切削窩洞にセルフエッチシステムを応用する際、リン酸エッチ

ングを前処理として併用することが推奨される。レーザー切削は発熱作用があるため、切削直後に象牙芽細胞層において顕著な歯髄刺激反応が生じるが、一方で、歯髄細胞に対してレーザー光の LLLT 効果による活性化作用が働き、歯髄組織の早期回復が期待できる。したがって、レーザーを併用してコンポジットレジン修復を行う場合、歯髄刺激に関してのインフォームドコンセントを行うとともに、十分な経過観察が必要である。

本研究の一部は、科学研究費基盤研究 (C) (課題番号 23234567) の補助によって行われた。本研究に関連した開示すべき COI 関係はない。

文 献

- 1) Takizawa M, Aoki S, Takase Y, et al: Clinical evaluation of Er:YAG laser for cavity preparation. *Oper Dent*, 38 : 1035-1047, 1995.
- 2) Mir M, Meister J, Franzen R, et al: Influence of water-layer thickness on Er:YAG laser ablation of enamel of bovine anterior teeth. *Lasers Med Sci*, 23 : 451-457, 2008.
- 3) Hadley J, Young DA, Eversole LR, et al: A laser-powered hydrokinetic system for caries removal and cavity preparation. *J Am Dent Assoc*, 131 : 777-785, 2000.
- 4) Mir M, Meister J, Franzen R, et al: Influence of water-layer thickness on Er: YAG laser ablation of enamel of bovine anterior teeth. *Lasers Med Sci*, 23 : 451-457, 2008.
- 5) Sakakibara Y, Ishimaru K, Takamizu M: A Study on bond strength to dentin irradiated by Erbium:YAG Laser. *Oper Dent*, 41 : 207-219, 1998.
- 6) Tachibana A, Marques MM, Soler JM, et al: Erbium, chromium: yttrium scandium gallium garnet laser for caries removal: influence on bonding of a self-etching adhesive system. *Lasers Med Sci*, 23 : 435-441, 2008.
- 7) Kato C, Taira Y, Suzuki M, et al: Conditioning effects of cavities prepared with an Er,Cr:YSGG laser and air-turbine. *Odontology*, 100 : 164-171, 2012.
- 8) 加藤千景, 新海航一, 鈴木雅也, 他 : Er,Cr:YSGG Laser 切削象牙質に対するコンポジットレジンの微小引張接着強さ. *接着歯学*, 31 : 1-9, 2013.
- 9) 新海航一 : レーザーにより切削されたエナメル質への接着. *接着歯学*, 31 : 26-30, 2013.
- 10) Takada M, Shinkai K, Kato C, et al: Bond strength of composite resin to enamel and dentin prepared with Er,Cr:YSGG laser. *Dent Mater J*, 34 : 863-71, 2015.
- 11) 鈴木雅也, 平 賢久, 新海航一, 他 : Er,Cr:YSGG レーザー切削窩洞におけるコンポジットレジン修復の象牙質窩壁適合性. *接着歯学*, 30 : 145-151, 2012.
- 12) Takada M, Suzuki M, Shinkai K, et al: Effect of adhesive system application for cavities prepared with erbium, chromium: yttrium scandium gallium garnet laser on rat dental pulp tissue. *Odontology*, DOI 10.1007/s10266-016-0278-x.