FELを用いた歯象牙質の表面改善及びその分析方法 The FEL Surface Modification and Analysis of Tooth Dentine

荻野誠司, 栗津邦男, 安本正人*, 西村榮一, 富增多喜夫

(株)自由電子レーザー研究所

〒573-01 大阪府枚方市津田山手2-9-5

TEL 0720-96-0417 FAX 0720-96-0421

*大阪工業技術研究所

S. Ogino, K. Awazu, M. Yasumoto*, E. Nishimura and T. Tomimasu

Free Electron Laser Research Institute, Inc. (FELI)

2-9-5 Tsudayamate Hirakata Osaka 573-01 JAPAN

*Osaka National Research Institute, AIST

要 旨

最近の歯科分野では歯硬組織のレーザーを用いた除去等が新たな関心となっている。一方波長を自由に可変でき、独特な短パルス構造を持つ自由電子レーザー(FEL)が開発され利用研究が活発に進められている。波長を任意に変えることにより特定の結合を直接励起することができ、選択的な光反応を起こすことができる。今回我々は歯象牙質の吸収ピークに合わせた9.4 μ mFEL照射により、リン酸イオン部の選択的共鳴レーザーアブレーション及びアニールを引き起こし、アモルファスな象牙質表面の結晶性が向上した。

キーワード：FEL：象牙質：照射効果：赤外吸収率

Abstract

Recent dental studies have reawakened interest in photo-induced ablation for hard tissue such as enamel or dentine. On the other hand, a novel Free Electron Laser (FEL) having the broad tunability and the unique short pulse structure has been developed and used for various applications. Our FEL irradiation experiments show high efficiency for the photo-induced ablation when the laser is tuned to absorption maximum of the target. Using the FEL tuned to phosphoric acid ion (9.4 μ m) which is an absorption maximum in infrared region on dentine, we investigate the irradiation effect on dentine. As a result, it was observed that irradiated dentine surface which was amorphous changed to the recrystallized structure. This result indicates that 9.4 μ m-FEL irradiation caused selective ablation of phosphoric acid ion and annealing.

Key words : FEL, Dentine, Irradiation Effect, Infrared absorption rate

1. 目的

現在歯科分野ではレーザーを用いた歯の硬組織の除去、表面改質（耐酸性付与）等が最大の関心となっており、各種レーザーの照射効果について研究が行われている¹⁻⁴⁾。レーザーを用いる場合に照射対象物表面での反射や透過が少なく、吸収しやすい波長の光を用いることが重要である。生体硬組織（象牙質、エナメル質、骨等）の赤外領域における光吸収スペクトルは、最も大きな吸収ピークが $10\mu\text{m}$ 前後に、次に大きな吸収ピークが $3\mu\text{m}$ 前後に存在することが報告されている^{5), 6)}。そして歯硬組織に有効なレーザーは $10\mu\text{m}$ の吸収ピークに着目した場合は発振波長 $10.6\mu\text{m}$ の CO_2 レーザーや波長可変式 CO_2 レーザーが、 $3\mu\text{m}$ の吸収ピークに着目した場合には発振波長 $2.94\mu\text{m}$ の Er:YAG レーザーが用いられている。 $2.94\mu\text{m}$ の光は歯硬組織中の水分子に光エネルギーが十分に吸収され、水分子の熱振動を引き起こし、急激な温度上昇による蒸発が組織のアブレーションを引き起こすというものである。これに対し $10\mu\text{m}$ 前後の光は歯を構成するハイドロキシアパタイト（HAP）のリン酸イオン基に光エネルギーが吸収されるものである。波長可変式 CO_2 レーザーの実験結果では対象組織の最大吸収波長に近い波長のレーザーほど加工効果があり、しかもこの場合の波長のもつ意義は $10^{-2}\mu\text{m}$ という微細なレベルで効いてくるといふ厳格なものであることが報告されている⁶⁾。つまり、対象組織の精巧な吸収率分析とそれに基づいた最適波長のレーザー光を選択して用いることが望まれる。しかし従来のKBr錠剤法や薄膜サンプルを用いる透過法による吸収率分析ではサンプルの照射部分を間接的にしか測定できない。また従来の波長可変 CO_2 レーザーでは限られた特定波長しか発振できず、対象組織の最大吸収波長にレーザー発振波長を正確に合わせることはできない。この発振波長の制限をブレイクスルーする新レーザーとして、赤外領域から紫外領域の空白の波長を連続的に自由に選択し出力できる自由電子レーザー（Free Electron Laser以下略してFEL）が脚光を浴びている^{7), 8)}。

今回我々はまず顕微反射方式の分光分析を採用し、レーザースポット径以下の微小部分の吸収率を直接測定することを第1目的にした。次にヒト抜去歯象牙質の最も大きい吸収ピークに合わせたFEL光の照射による組織の加工効果、さらに特性変化を明らかにすることを第2目的として、形態的变化を走査型電子顕微鏡によって観察し、さらに結晶構造的変化を顕微反射方式吸収率分析、微小部X線結晶構造分析、微小部元素分析により調べた。さらに吸収率が小さい波長にFELを合わせた比較実験を行い、照射効果の波長依存性を確認した。また最近新

図1 象牙質の吸収スペクトル(顕微反射法, 顕微透過法)

たに開発したFEL照射装置、分析装置についても最後に言及する。尚、平成8年7月現在自由電子レーザー研究所で発振できるFELの各パラメータは波長可変領域 $0.28\mu\text{m}\sim 22\mu\text{m}$ 、波長分解能0.5%、平均出力50mW、パルス幅数ps程度である。

2. 顕微反射方式の吸収率分析—ヒト抜去歯（エナメル質、象牙質）の吸収率測定—

まず従来法の薄膜切片を用いた透過性と厚い切片を用いた反射法を比較した。次に同一サンプル内のエナメル質、象牙質部分を分光分析した。

1) 方法

透過法で吸収ピークを正確に測定するには測定試料の厚さをできるだけ薄くし、表面を平坦にする必要がある。そこでまず試料のヒト抜去歯を精密低速切断機アイソメット（ビューラー社製）及び研磨機（ビューラー社製）を用いて、象牙質の極薄切片（厚さ $20\mu\text{m}$ 程度）と厚い切片（厚さ 1mm 程度）を作製した。次に赤外分光装置（ニコレー製、Magna750）を用いて極薄切片は顕微透過法で、厚い切片は顕微反射法で光吸収スペクトルを測定した。測定条件は、測定面積 $120\times 120\mu\text{m}$ 、分解能 4cm^{-1} 、スキャン32回で行った。

2) 成績

サンプル間での違いはあるものの象牙質では吸収ピークが $9.4\sim 9.6\mu\text{m}$ に存在することを確認した（図1）。しかし透過法での測定結果ではこのピーク強度値は飽和していると思われる正確性を欠く。反射法、透過法の吸収強度の違いは透過法に用いた薄膜切片の厚さによるものであり、透過法を用いる場合はさらに薄い切片を作製する必要がある。これに対し反射法を用いればサンプルを極薄処理せずにすみ、レーザー照射サンプルをそのまま直接測定できる。

次にエナメル質、象牙質部分の顕微反射分光分析スペクトルを図2に示す。歯の象牙質領域からエナメル質領

域に測定範囲を変えるに従って、吸収スペクトルも徐々に $9.1\mu\text{m}$ に変化するとともに象牙質内に存在する有機成分に由来する $6\sim 7\mu\text{m}$ の吸収ピークも小さくなることが分かった。またこれらの結果より今回のFEL照射波長はどの部分に於いても最大吸収ピークからはずれないように $9.4\mu\text{m}$ に設定した。

3. FEL照射実験

1) 実験材料

試料はヒト抜去歯の象牙質部分を $3\text{mm}\times 3\text{mm}$ 角 $\times 1\text{mm}$ 厚程度に切り出したものを表面研磨処理後に使用した。

図2 象牙質, エナメル質の吸収スペクトル(顕微反射法)

図3 FEL光のビームプロファイル

2) 照射条件

レーザには波長 $9.4\mu\text{m}$ のFEL光を用いた。図3にFEL光のビームプロファイルを示す。FEL光はマイクロパルスとマクロパルスと呼ぶ2重のパルス構造をしており、1マクロパルスは約330個のマイクロパルスから構成されている。FEL光はFEL伝送系を用いて約50(m)先の実験室まで伝送する。そしてFEL光を放物面ミラーを用いて $0.2(\text{mm})\times 0.6(\text{mm})$ 径程度に集光させ、水平な試料面に上方より垂直に空気中で照射した。また試料照射前にFEL光の波長、パワー測定をした。照射面積は照射痕のSEM観察より決定した。表1に照射条件を示す。

3) 分析方法

分析は以下の4方法を用い、同一試料の照射部、非照射部を対比して行った。また以下の(2)(3)(4)の各方法は照射時間5(sec)の試料を用い、分析範囲 $100\mu\text{m}\times 100\mu\text{m}$ 角程度のほぼ同じ照射改善部を分析した。

(1) 走査型電子顕微鏡 (SEM) による表面形態観察

試料表面に白金蒸着を施した後、SEM(日立製, S-4200型)にて照射部表面の形態観察した。

(2) 赤外吸収率分析

顕微赤外分光装置(ニコレー製, Magna750)を用いて光吸収スペクトルを測定した。測定方法は顕微反射法を用い、分解能 4cm^{-1} の条件で行った。また比較のため、合成HAP(FEL非照射)についても分析を行った。

(3) X線回折装置 (XRD) による結晶構造分析

微小部X線回折装置(リガク製, RINT-i500)を用いて回折X線の角度スペクトルを測定し、HAPの結晶面に合った回折ピークのプロファイルから結晶性について評価した。また比較のため合成HAP(FEL非照射)、エナメル質(FEL非照射)についても分析を行った。

(4) エネルギー分散型X線分析装置 (EDX) による元素分析

EDX(ホリバ製, EMAX-5770)を用いて含有元素の蛍光X線スペクトルを測定し、これからP/Ca元素比を

表1 FEL照射条件

波長	$9.4\mu\text{m}$
波長幅	0.5%
パルス幅	数ps(マイクロパルス)
繰り返し数	330パルス(マイクロパルス/マクロパルス) 10パルス(マクロパルス/s)
照射面積	$0.2\text{mm}\times 0.6\text{mm}$
ビーム出力	30mW(平均) 7.5MW(ピーク)
照射時間	5s, 30min

図4 象牙質照射部のSEM観察像

図5 象牙質 (FEL照射, FEL非照射) の赤外吸収率分析結果

図6 象牙質 (FEL照射), 合成HAP (FEL非照射) の赤外吸収率分析結果

定量分析した。また比較のため合成HAP(FEL非照射), エナメル質 (FEL非照射) についても分析を行った。

4) 成績

(1) 走査型顕微鏡 (SEM) による表面形態観察

図4に象牙質照射部のSEM観察像を示す。レーザー照射部 (30min) は切削除去されているのに対し, 照射周辺部では溶融後に再結晶したような形態が観察された。

図7 象牙質 (FEL照射, FEL非照射) のX線結晶構造分析結果

図8 象牙質 (FEL非照射), エナメル質 (FEL非照射), 合成HAP (FEL非照射) のX線結晶構造分析結果

またその結晶粒の大きさは周辺ほど小さくなっていた。また照射時間5 (s) の試料ではレーザー照射部のみ照射痕が観察されたが周辺部では変化は見られなかった。またいずれも臨床において問題となるクラックは生じなかった。

(2) 微小部赤外吸収率分析

図5に赤外吸収率の測定結果を示す。このサンプルの非照射部では9.57 (μm) が吸収ピークであったのに対し照射部では8.94 (μm) に吸収ピークが変化することが分かった。次に合成HAP (FEL非照射) の分析結果を図6に比較して示す。象牙質 (FEL照射) のスペクトルと合成HAP (FEL非照射) のスペクトルはピーク値, ピークプロファイルともに良く似ている。尚, 合成HAPは表面の凹凸のためスペクトル平坦部の強度が誤って大きくなっている。

(3) X線回折装置 (XRD) による微小部結晶構造分析

図7に回折X線の角度スペクトルを示す。非照射部では大きな回折ピークしか判別できずピークプロファイルは裾広がりであることから, 結晶構造は非晶質 (アモルファス) に近い構造をしている。これに対し照射部では新たな回折ピークが現れ, ピークプロファイルも鋭く変

図9 象牙質 (FEL非照射), 象牙質 (FEL照射), エナメル質 (FEL非照射) 合成HAP (FEL非照射) の元素分析結果

化していることから結晶性が向上したことが分かった。次に図8に象牙質, エナメル質がそしてさらに合成HAPの方が結晶性は良いことが分かる。尚, 図7, 図8での角度の違いはX線光源の違いによるものである。

(4) エネルギー分散型X線分析装置 (EDX) による微小部元素分析

図9に象牙質非照射部, 照射部, エナメル質 (FEL非照射), 合成HAP (FEL非照射) の蛍光X線スペクトルを示す。象牙質照射部のスペクトルは象牙質非照射部のスペクトルと比べC, P成分が減少し, エナメル質,

表2 P/Ca元素比の分析結果

象牙質 (非照射部)	0.653
象牙質 (照射部)	0.601
エナメル質	0.583
合成HAP	0.549

図10 HAPの結晶構造

合成HAPに似たスペクトルに変わっている。また表2にP/Ca元素比を示す。これから照射部では0.65から0.60に減少しエナメル質, 合成HAPに近い元素比に変化していることが分かった。尚, 分析時の測定誤差を低減するため60分計測を行い, さらに計測を10点繰り返した。測定誤差は0.01程度である。

4. 考察1 -9.4 μm FEL照射効果-

今回用いた9.4 μm FELレーザは水の吸収ではなく, 歯の主要構成分子であるリン酸イオンの吸収による切削であり, この照射効果, メカニズムについて考察した。

化学式で言う理想的なHAPは図10に示す結晶構造をしており, P/Ca元素比は0.6である。ところが実際の象牙質では一部の PO_4 イオンの位置に CO_3 イオンが, Caの位置にNaが不純物として配位している。また一部の PO_4 イオン格子間分子として存在し, P/Ca元素比は0.65とリンが多い。これらの不純物と格子間分子が存在したアモルファスに近い結晶構造を象牙質はしている。

(1) 走査型顕微鏡 (SEM) による表面形態観察

レーザ照射時間が30 (min) と長くなるとビーム照射周辺に改質部が現れる。これはFEL照射によりアブレーションされた分子が照射部周辺部に堆積して再結晶化したものと考えられる。

(2) 赤外吸収率分析

赤外吸収ピークは対称の構成分子 (今回は PO_4 イオン)

写真1 FELマニピレータ

写真2 FEL照射分析装置

の周辺分子、原子の種類、位置によってピーク値、ピーク幅が決まる。この分析では定量的な議論はできないが、FEL照射象牙質はエナメル質（FEL非照射）より合成HAPに近い元素分布と結晶構造をしていると思える。

(3) X線回折装置（XRD）による結晶構造分析

X線分析では分析サンプルの表面だけでなく全厚さ分の情報が得られる。今回の改質領域は $10\mu\text{m}$ 厚程度であるのに対し試料厚は $0.1(\text{mm})$ であるので分析データには実際には改質していない情報が混在している。つまり表面改質層はもっと結晶性が良く、合成HAPに近いと思われる。

(4) エネルギー分散型X線分析装置（EDX）による元素分析

元素分析の結果、P成分が減っている。これはHAPの結晶格子に配位している PO_4 イオンより格子間分子の PO_4 イオンの方が結合エネルギーが小さいため選択的にアブレーションされ、引き出されたものと考えられる。

これらの各分析結果の考察より $9.4\mu\text{m}$ のFEL照射による歯の照射効果のメカニズムは以下のように考えている。まずFEL照射により選択的なリン酸イオン部のアブレーションにより格子間分子のP成分が減りP/Ca組成が0.6に変化する。次に照射部表面での光分解反応

により切削が起こる。そして照射後アニール効果により、アモルファスな象牙質の結晶性が向上すると考える。

5. 考 察 2 ー照射波長依存性ー

今回照射した $9.4\mu\text{m}$ 以外に比較実験としてFELビーム強度を 30mW と同一にして波長を①吸収率が低い $4.9\mu\text{m}$ 、②象牙質内の有機成分による吸収 $6.1\mu\text{m}$ 、③比較的吸収が大きい $8.9\mu\text{m}$ を選択した。その結果①②は照射時間 $30(\text{min})$ でもなんら変化を生じなかった。③は $1(\text{min})$ 程度の照射で $9.4\mu\text{m}$ 、 $5(\text{sec})$ 照射と同等の効果を生じた。また従来レーザーの照射強度が 10W レベルなのに対しFELでは3桁低い強度である。これは歯の吸収波長に一致したビームであるだけでなく、FELがパルス幅が数PSと極端パルスレーザーである効果だと考える。

6. 考 察 3 ーFEL照射装置、分析装置ー

平成8年3月に汎用型FEL照射装置としてFELマニピレータを完成した（写真1）。これは実験室まで伝送してきた直径 $50(\text{mm})$ 程度のFEL光を縮小光学系（レデューサ）により $1/10$ に絞り、末端部にて $f=100$

ZnSeレンズで集光できるウェイトバランス式7関節マニピレータである。予備実験ではバーンパターで数100 μm 程度以下に集光できることを確認している。

写真2にFEL照射分析装置を示す。これは真空中度 10^{-10} (Torr)まで引ける真空装置及びマスフロー装置を持ち、真空だけでなく各種ガス雰囲気での照射、分析ができる。FELビームはチャンバー外に設置したZnSeレンズにより、ZnSe窓を通して集光導光される。照射試料はパソコン制御された5軸ゴニオメータにホルドできる。分析系にはQマス型質量分析装置と分光分析装置を設置し、照射により生じたアブレーション粒子の質量分析励起発光スペクトル分析ができる。平成8年9月には飛行時間型質量分析装置を設置する計画である。

7. 結 論

今回我々はFELの波長可変性という特徴を活かし、ヒト抜去歯象牙質の最も大きい吸収ピーク(HAPのリン酸イオン基によるもの)に合わせたFEL光の照射を行い、象牙質に対する照射効果を調べた。分析には顕微反射方式の吸収率分析を採用し、レーザスポット径以下の微小部分の吸収率を直接測定することによりレーザ照射部分の吸収特性を調べた。さらに組織の加工効果だけではなく結晶構造的变化を顕微反射方式分光分析、微小部X線結晶構造分析、微小部元素分析により調べた。その結果

1. 顕微反射法によりレーザ照射サンプルの吸収特性を直接同定できた。
2. 歯の象牙質領域からエナメル質領域に変わるに従って、吸収ピークが徐々に $9.6\mu\text{m}$ から $9.1\mu\text{m}$ に変化していくことが分かった。
3. 象牙質の切削及び溶融後に再結晶したような形態が観察された。
4. 象牙質の赤外吸収スペクトルの吸収ピークが $9.4\mu\text{m}$ FEL照射により、短波長側に変化($9.57\rightarrow 8.94(\mu\text{m})$)しHAPと似たスペクトルに変化することが分かった。
5. 象牙質内のHAP構造に由来する回折ピークが明瞭になり結晶性が向上していることが分かった。
6. P/Ca元素比が減少($0.65\rightarrow 0.60$)する現象を確認した。

これらは、FEL照射により選択的なリン酸イオン部のアブレーション及びアニールを引き起こした結果、アモルファスな象牙質の結晶性が向上したと考える。今後はアブレーション粒子の分析を行いアブレーションのメカニズムの解明を目指すとともに、FELビームマニピュ

レータを汎用装置として活用していく予定である。

文 献

- 1) 山田恵子, 黒田洋史, 林千佳, 山田夏美, 神山紀久男: レーザ照射象牙質切片上に培養した破骨細胞に関する研究-細胞の接着と象牙質吸収について-, 日本レーザ歯学会誌, 5: 67-72, 1994.
- 2) 菅田文雄, 大森康以知, 田中昭男, 遊津隆義, 千田彰, 五味昭良, 神谷一有, 長谷川二郎: 象牙質に対する炭酸ガスレーザの照射効果, 日本レーザ歯学会誌, 5: 73-80, 1994.
- 3) 森岡俊夫, 鈴木和雄, 森田恵美子: レーザ照射によるエナメル質耐酸性向上に関する研究-第1報-, 日本レーザ歯学会誌, 3: 605, 1982.
- 4) 萩野誠司, 栗田邦男, 富増多喜夫: 象牙質に対する自由電子レーザ(FEL)の照射効果, 日本レーザ歯学会誌, 7: 67-71, 1996.
- 5) 熊崎護, 豊田紘一: Er: YAGレーザーによる歯牙硬組織切削について, 日本レーザ歯学会誌, 6: 16-24, 1995.
- 6) 長澤明範, 西川宏司, 平柄善章: 歯牙の光学特性と各種レーザの歯牙への作用の相異, 医用電子と生体工学18, 特別号, 178-179, 1980.
- 7) 富増多喜夫: 入門自由電子レーザ, 社団法人日本原子力学会, 1995.
- 8) 電気学会 自由電子レーザ調査専門委員会(編): 自由電子レーザとその応用, コロナ社, 1990.