ラット歯面に対するクリスタルバイオレット水溶液 塗布と Yellow He-Ne レーザー照射による プラーク形成抑制効果

森谷良智 伊藤公一 平野泰之* 村井正大

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座

*日本大学歯学部細菌学教室

(主任：村井正大教授)

(平成9年9月9日受付)

Inhibitory Effect of Application of Crystal Violet Solution and Yellow He-Ne Laser Irradiation on Coronal Plaque Formation in Rats

Yoshitomo Moriya, Koichi Ito, Yasuyuki Hirano* and Seidai Murai

Department of Periodontology

*Department of Bacteriology

Nihon University School of Dentistry

1-8-13 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8310, Japan

(Chief : Prof. Seidai Murai)

The purpose of this study was to evaluate the inhibitory effect of the application of crystal violet solution (0.8 mg/l : CV) and yellow He-Ne laser irradiation (4.3 mW, 594 nm : laser) on dental plaque formation on posterior tooth surfaces in rats. Twenty-four 22-23-day-old female Donryu rats were used, and divided into 4 groups. The right and left maxillary 1st molars of the rats in each group were assigned to one of the following 4 treatment groups : 1) He-Ne+CV group-application of CV plus laser irradiation (25 sec, 3 times daily for 2 weeks period) ; 2) He-Ne group-laser irradiation alone ; 3) CV group-application of CV alone, and 4) Control group-no application of CV or laser irradiation. Three rats in each group were sacrificed 1

week and 2 weeks later. Inhibitory effect on plaque formation on the maxillary left 1st molars was assessed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy. The upper right 1st molars were evaluated histologically. The thickness of the plaque on the section was measured under a microscope. At 1 week, the inhibitory effect on plaque formation in the He-Ne+CV group was statistically less than in He-Ne, CV, and control, the groups. However there were no statistically significant differences in inhibitory effect on plaque formation between the groups at 2 weeks.

The results indicate that application of CV and laser irradiation may be a useful method of inhibiting early plaque formation.

Key words : Yellow He-Ne laser, Crystal violet solution, Rat tooth, Inhibition of plaque formation

要旨 : ラット歯面にクリスタルバイオレット 0.8 mg/l 水溶液 (CV) を塗布し Yellow He-Ne レーザー (4.3 mW, 594 nm : レーザー) を照射することで、プラーク形成に対する抑制効果を検討した。生後 22~23 日齢の雌ドンリュウ系ラット 24 匹を実験に使用し 4 群に分けた。ラットの左右側上顎第 1 臼歯近心面 (M1) に CV を塗布し、左右側 M1 に各 25 秒間ずつレーザー照射を行った。この操作を 5 時間おきに 1 日 3 回、2 週間行い

He-Ne+CV 群とした。また、同様の条件下でレーザーのみを照射した群を He-Ne 群, CV のみを塗布した群を CV 群とし、これらの操作を行わないものをコントロール群とした。実験開始後 1 週目, 2 週目に各群のラットを 3 匹ずつ安楽死させ、各群の左側 M1 を対象と実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡でプラーク付着様相を評価し、右側 M1 については非脱灰研磨標本を作製し光学顕微鏡でプラークの厚みを計測した。その結果、プラーク付着様相において 1 週目では He-Ne+CV 群はプラーク形成がコントロール群, He-Ne 群, CV 群に比べ有意に少なかった。しかし、2 週目では各群のプラーク形成に差は認められなかった。以上のことから、プラーク形成の初期においては CV 塗布とレーザー照射の併用によるプラーク抑制効果が認められ、その有用性が示唆された。

索引用語：Yellow He-Ne レーザー，クリスタルバイオレット水溶液，ラット歯面，プラーク形成抑制

緒 言

現在、歯周治療を行ううえで、炎症性因子であるプラークを除去することが重要であることに意見の一致を見ている¹⁻⁵⁾。その方法として日常的に行われているのが機械的プラークコントロール⁶⁾および化学的プラークコントロール⁷⁻⁹⁾であるがそれぞれ一長一短がある。そのようなことから、これまでのプラークコントロールに変わる新しい方法としてレーザー照射による殺菌効果の応用が試みられている¹⁰⁻¹³⁾。しかし、その殺菌効果は高出力レーザー照射時に発生する熱によって起こるので、口腔内に用いる場合、硬組織や軟組織に対する為害性を考慮しなければならない。一方、低出力レーザーは、生体に対する活性化効果があることから、疼痛の軽減ないし抑制および創傷治癒の促進などの生体機能刺激効果を期待して臨床に頻用されている¹⁴⁻¹⁷⁾。さらに、最近、低出力レーザーのうち、とくに He-Ne レーザー照射と色素を併用することによる殺菌効果についての報告が散見されるようになった¹⁸⁻²³⁾。

この He-Ne レーザー照射のプラーク形成に及ぼす抑制効果についての研究は *in vitro* のみならず *in vivo*²⁴⁾でも行われている。平野ら¹⁴⁾の報告によれば、光増感作用を有する色素であるクリスタルバイオレットの存在下で、Yellow He-Ne レーザー照射を行うことで殺菌効果が発現し、歯周治療において臨床応用が可能であることが示唆されている。

そこで、本研究では生後 22~23 日齢雌ドンリュウ系ラット歯面を用い、クリスタルバイオレット水溶液と Yellow He-Ne レーザー照射の併用がプラーク形成抑制に有効であるかどうかを検討した。

材料および方法

1. 材 料

1) 実験動物

実験動物には生後 22~23 日齢のドンリュウ系雌ラット（平均体重約 70 g）24 匹を用い、固型飼料（オリエンタル酵母工業，MF，東京）および水道水を十分に与え、温度（22℃）、湿度（60%）共に一定の条件下で飼育した。

2) He-Ne レーザー

使用した He-Ne レーザー装置は、プローブ先端部の平均出力が 4.3 mW、波長 594 nm の黄色可視光線を連続照射可能な Yellow He-Ne レーザー装置（長田電機工業社試作，東京；以下レーザーと略す）である。

3) 試薬

光増感剤として使用した色素は、クリスタルバイオレット 0.8 mg/l 水溶液（和光純薬，大阪；以下 CV と略す）である。

2. 方 法

1) 実験方法

ラットにハロタン（ヘキストジャパン，東京）による吸入麻酔を施し、ただちにラット口腔内、左右側上顎第 1 臼歯近心面（以下 M1 と略す）に綿棒にて CV を塗布した。CV 塗布に際しては歯面のプラークを除去しないよう注意深く行った。その後、M1 よりプローブの先端を約 5 mm の距離を保つようにレーザーを照射した。照射時間は左右各 25 秒間ずつ行った。この操作を 1 日 3 回、8 時、13 時および 18 時の 5 時間おきに 2 週間行い He-Ne+CV 群とした。また、同様な条件下でレーザーのみを照射した群を He-Ne 群, CV のみを塗布した群を CV 群とし、これらの操作を行わないものをコントロール群として実験を行った。

2) 観察方法

ラットを実験開始後 1 週目および 2 週目に He-

図 1 ラット上顎第一臼歯近心面 (×35)
bar : 500 μ m

Ne+CV 群, He-Ne 群, CV 群, コントロール群の各 3 匹ずつハロタンの過剰投与にて安楽死させた。次いで, 臼歯を上顎骨ごと摘出し, 矢状方向にて左右上顎骨の分割を行った。左側は実体顕微鏡 (オリンパス, SZH, 東京) による観察および走査型電子顕微鏡 (日本電子データム, JSM-T 100, 東京; 以下 SEM と略す) による観察に用い, 右側は光学顕微鏡 (オリンパス, AHBS-514, 東京) による観察に用いた。

左側は安楽死後ただちに血液などを生理食塩水にて洗浄し, CV にてプラークを染色した。染色されたプラークを実体顕微鏡を使用し倍率 22.5 倍で観察した。次いで, その試料を 2% グルタルアルデヒド 0.2 M カコジル酸ナトリウム pH 7.5 で固定後, 通法に従いアルコール上昇列により脱水, アミルアセテートに浸漬後, 臨界点乾燥器 (日本電子データム, JCPD 5, 東京) で処理を行い, 試料表面にイオンスパッタコーティング (日本電子データム, JFC-1100, 東京) を施し SEM を用いて観察した。なお, 各歯面上のプラークの付着様相は, 左側 M1 を歯頸部付近, 歯面中央付近, 切端部付近の 3 区分をランダムに 3 点 (図 1), 倍率 2000 倍で写真撮影を行い観察し, Yamaguchi ら²⁵⁾の分類をもとに改変した 5 段階のプラーク付着スコア (表 1) に従いスコアを算出し, 各区分の平均値を求め合計したものをラット 1 匹あたりのプラークスコアとした。

右側は生理食塩水にて洗浄後, 2% グルタルアルデヒド 0.2 M カコジル酸ナトリウム pH 7.5 で固定後, アルコール上昇列にて脱水した。通法に従い Rigolac resin (日新 EM, 東京) にて包埋を行った。右側上顎骨は頬舌的に M1 の部分を MICROCUTTER (マルトー, MC-201, 東京) にて薄切後, 100 μ m の厚さまで研磨し, 非脱灰研磨標本とした。標本

表 1 プラーク付着スコアの判定基準

0	歯面上に細菌の存在を認めない。
1	歯面上に散在性に細菌が存在するが, 著明な細菌の集落化を認めない。
2	歯面上に散在する細菌と多数の島状細菌集落を認める。
3	歯面上に球菌および桿菌の集落が歯面のほぼ 1/2 以上を覆っている。
4	歯面上に歯面全体が球菌, 桿菌塊に覆われている。

は, 塩基性フクシンメチレンブルー二重染色法によって染色し光学顕微鏡にて観察した。観察の際, 歯頸部付近のエナメル質表面に付着したプラークを倍率 100 倍で写真撮影後 10 倍の投影機 (MITUTOYO, PV 350, 東京) にて拡大しプラークの厚みを計測した。計測はプラークの最も厚いところを選択し, そのエナメル質表面からプラーク表面までを計測し, その標本のプラーク量とした。

プラーク付着スコアによる評価および組織標本による厚みの統計処理は one-way Factorial ANOVA および Scheffe 法を用いて検定を行った ($p < 0.05$)。

結 果

1. 実体顕微鏡による観察

1) 1 週目

ラットの左側 M1 に付着したプラークは, コントロール群では歯頸部から切縁部まで薄く染色されたプラークが全面に付着していた。He-Ne 群および CV 群では M1 近心面歯頸部に CV で濃染されたプラークが認められた。He-Ne+CV 群では歯頸部に少量のプラークが付着しているだけであった。また, 各群ともに周囲軟組織には発赤, 腫脹などの炎症症状は認められなかった。

2) 2 週目

コントロール群において CV に濃く染まったプラークが歯面の 2/3 を覆っていた。He-Ne 群, CV 群では 1 週目より濃く CV に濃染されたプラークが歯頸部に認められた。He-Ne+CV 群では歯面全体に濃く染まったプラークが観察された。1 週目および 2 週目における He-Ne 群と CV 群間にプラーク付着状態の差は認められなかった。また, 2 週目においても周囲軟組織に炎症症状は認められなかった。

2. SEM による観察

1) 1 週目

コントロール群においては, 歯面全体が, 球菌, 桿菌塊により覆われるものが歯頸部および中央部に認め

図 2-1 1 週目コントロール群 (×2,000)
歯頸部付近 bar: 10 μm

図 2-2 1 週目 He-Ne+CV 群 (×2,000)
歯頸部付近 bar: 10 μm

図 2-3 1 週目 He-Ne 群 (×2,000)
切端部付近 bar: 10 μm

図 2-4 1 週目 CV 群 (×2,000)
歯面中央部付近 bar: 10 μm

図 3 プラーク付着スコアの結果
(☆: $p < 0.05$)

られ、また、歯面上に球菌および桿菌の集落が歯面のほぼ1/2以上を覆うものが切端部に見られた(図2-1)。He-Ne+CV群では、中央部、切端部に歯面上に均等に散在した細菌が存在するが著明な集落化は認められず、歯頸部において細菌の集落化をわずかに認める程度であった(図2-2)。He-Ne群およびCV群では歯頸部および中央部に歯面全体が球菌および桿菌塊により覆われるものや島状細菌集落が認められ、切端部では細菌が散在して見られるか、または細菌の存在が認められなかった(図2-3、2-4)。プラーク付着スコアは、コントロール群、He-Ne群およびCV群に対しHe-Ne+CV群が有意に低いスコアを示した(図3)。

2) 2 週目

コントロール群においては、ほぼ試料の全面が球菌、桿菌塊に覆われていた(図4-1)。He-Ne+CV

図 4-1 2週目コントロール群 (×2,000)
歯面中央部付近 bar: 10 μm

図 4-2 2週目 He-Ne+CV 群 (×2,000)
歯面中央部付近 bar: 10 μm

図 4-3 2週目 He-Ne 群 (×2,000)
切端部付近 bar: 10 μm

図 4-4 2週目 CV 群 (×2,000)
歯頸部付近 bar: 10 μm

群, He-Ne 群, CV 群では歯頸部および中央部で球菌, 桿菌塊に覆われているが切端部では細菌が散在性に見られるかまたは細菌をほとんど認めなかった (図 4-2, 4-3, 4-4)。プラーク付着スコアでは He-Ne+CV 群, コントロール群, He-Ne 群, CV 群の間に統計学的有意差は認められなかった (図 3)。

3. 光学顕微鏡による観察

1) 1週目

歯頸部付近の歯面に付着したプラークは塩基性フクシンに染色され, コントロール群, He-Ne 群, CV 群共に歯面の全体を帯状に覆っているのが見られた (図 5-1)。He-Ne+CV 群では染色されたプラークが歯面の一部に付着している程度であった (図 5-2)。プラークの厚みは He-Ne+CV 群で薄い傾向を示したが統計学的有意差は認められなかった (図 6)。

2) 2週目

コントロール群, He-Ne 群, CV 群, He-Ne+CV 群共に歯面全体を覆う塩基性フクシンに染色されたプラークが認められ, その厚さが1週目より増加しているのが認められた (図 7-1, 7-2)。プラークの厚みは各群で統計学的有意差は認められなかった (図 6)。

考 察

今回の実験で使用した CV 塗布と Yellow He-Ne レーザー照射の併用による殺菌効果については一連の *in vitro* の研究で証明されている^{18~21)}。Yellow He-Ne レーザーの *S. mutans* に対する殺菌のメカニズムは CV などの光化学増感によるものであり, 色素添加なしでは *S. mutans* の増殖阻止は起こらない。つまり, 好気条件下で色素が光増感剤として働き発生した

図 5-1 1 週目コントロール群 非脱灰研磨標本 (×100)
塩基性フクシンメチレンブルー二重染色法
矢印：プラーク E：エナメル質

図 7-1 2 週目コントロール群 非脱灰研磨標本 (×100)
塩基性フクシンメチレンブルー二重染色法
矢印：プラーク E：エナメル質

図 5-2 1 週目 He-Ne+CV 群 非脱灰研磨標本 (×100)
塩基性フクシンメチレンブルー二重染色法
矢印：プラーク E：エナメル質

図 7-2 2 週目 He-Ne+CV 群 非脱灰研磨標本 (×100)
塩基性フクシンメチレンブルー二重染色法
矢印：プラーク E：エナメル質

図 6 組織標本による厚みの結果

活性酸素が *S. mutans* に作用し殺菌効果を示すことが報告されている。続く実験では *S. mutans* 以外のプラーク構成細菌についても、CV と Yellow He-Ne レーザー照射を併用することで殺菌効果があることが明らかにされている¹⁸⁾。すなわち CV 濃度 0.8 mg/l では、グラム陽性菌である *S. mutans*, *S. sanguis*, *A. viscosus*, *A. naeslundii*, およびグラム陰性菌である *P. gingivalis*, *P. intermedia* の全株において 5 秒以上のレーザー照射で殺菌効果があり、CV 濃度 0.8 mg/l の 20 倍希釈である 40 μ g/l でも 30 秒以上の照射で効果が見られたと述べている。さらに、西方ら²¹⁾は、クリスタルバイオレットが 0.8 mg/l 含有される MS 寒天培地の吸光特性を調べ、その結果 590 nm で最大の吸光度を示したと報告している。今回の実験で使用した Yellow He-Ne レーザーは平均出力 4.3 mW、波長は 594 nm の黄色可視光線であり、これは Red He-Ne レーザー (波長 632.8 nm) よりも

CV の最大吸光波長に近く、殺菌効率が著明に発現するレーザーであることがこれまでの研究で証明されている¹⁸⁾。したがって過去の研究結果から、CV の使用濃度は 0.8 mg/l で、これをラット口腔内で使用した場合、レーザー照射時間は 25 秒で十分であり、唾液の稀釈により効果が低下することはないと思われる。そして、本レーザーを 10 分間連続照射した場合でも 1°C 以上の温度上昇はないことから、レーザーの殺菌効果が温度によるものではないことが分かっている²¹⁾。また、CV の生体応用の点では、CV の生体に対する安全性の面から数種の実験動物に対する経口投与による LD₅₀ を見ると、いずれも約 100 mg/kg 以上であるため、今回、用いた CV の濃度は 0.8 mg/l と極めて低濃度であり、この濃度では歯周組織や口腔粘膜に障害は少ないと思われる。

CV 塗布と He-Ne レーザー照射の殺菌効果が発現するには、酸素が不可欠である。つまり酸素の存在下で CV 分子が励起され、これから carbon-centered free radical を生じ、この free radical は自動的に superoxide anion (O₂⁻) さらには H₂O₂ を生成し²⁶⁾、Harber-Weiss 反応により、あるいは Fe³⁺ などの金属イオンが介在して起こる Fenton 反応などを介してこれらの生成物から hydroxyl radical (・OH) が生成される²⁷⁾ものと推察される。したがって、CV に He-Ne レーザーを照射すると活性酸素および H₂O₂ が生成され殺菌効果が発現し、酸素非存在下では CV 濃度を増加させても照射時間を延長させても全く殺菌効果は得られないことが考えられる。また、レーザー照射の殺菌効果は、照射時のみに発揮され、照射後まで効果は持続しないことも報告されている²⁰⁾。

今回の実験では、ラット歯面を用いて CV 塗布と Yellow He-Ne レーザー照射の併用によるプラーク抑制効果を検討した結果、プラーク形成の初期においてはこの処置によるプラーク抑制効果は見られるが、プラーク形成量が増し細菌叢がある程度の厚みをもつとレーザー照射の効果が低下する傾向にあった。この理由として、プラーク形成初期には比較的好気性菌が多いがプラークが厚さを増すと嫌気性菌の占める割合が多くなることから、好気性菌はレーザー照射による感受性が比較的高く嫌気性菌は感受性が低いことが考えられる。しかし、平野ら¹⁴⁾の研究によると嫌気性菌と好気性菌との間に、CV 塗布とレーザー照射の併用による殺菌効果に差はないと報告されていることから、酸素の存在がより重要であることが示唆される。すなわち、ある程度細菌叢が成熟し厚みを増すと内部は嫌気状態、つまり酸素が到達しにくい状態になりレーザー照射してもその効果は発現しないことが推察され

る。また、CV も表層のみにとどまり内部にまで浸透しなくなることも考えられる。

以上のことより、ラット歯面に CV 塗布および Yellow He-Ne レーザー照射を行うことにより、初期におけるプラーク形成の抑制効果は見られることから、新しいプラークコントロールの方法となり得ることが示唆された。しかし、本研究の条件設定では、成熟したプラークに対しては効果が低下することが考えられた。よって、今後より効果的な CV 濃度や照射時間、照射方法などに関して検討する予定である。

本研究は、平成 7 年度日本大学歯学部佐藤研究費の補助により行われたことを付記する。

謝 辞

本研究を行うにあたり、快く装置を提供して下さいました長田電機工業株式会社に深く感謝致します。

文 献

- 1) Nyman, S., Lindhe, J. and Rosling, B.: Periodontal surgery in plaque infected dentitions. J. Clin. Periodontol., 4 : 240-249, 1997.
- 2) Rosling, B., Nyman, S., Lindhe, J. and Jern, B.: The healing potential of the periodontal tissue following different techniques of periodontal surgery in plaque free dentition. J. Clin. Periodontol., 3 : 233-250, 1976.
- 3) Lindhe, J., Westflet, E., Nyman, S., Socransky, S. S. and Haffajee, A.D.: Long term effect of surgical and nonsurgical treatment of periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 11 : 448-458, 1984.
- 4) Löe, H., Theilade, E. and Jensen, S.B.: Experimental gingivitis in man. J. Periodontol., 36 : 177-187, 1965.
- 5) Socransky, S.S.: Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. J. Dent. Res., 49 : 203-222, 1977.
- 6) Lindhe, J., Hamp, J. and Löe, H.: Experimental periodontitis in the beagle dog. J. Periodont. Res., 8 : 1-10, 1973.
- 7) Loesche, W.H.: Chemotherapy of dental plaque infection. Oral Science Reviews., 9 : 65-107, 1976.
- 8) Hull, P.S.: Chemical inhibition of plaque. J. Clin. Periodontol., 7 : 431-442, 1980.
- 9) Ainamo, E.H.: Control of plaque by chemical agents. J. Clin. Periodontol., 4 : 23-35, 1977.
- 10) Klein, E., Fine, S., Ambrus, J., Cohen, E., Ambrus, C., Bardos, T. and Lyman, R.: Interaction of laser radiation with biologic systems. III. Studies on biologic systems *in vitro*. Fed. Proc., 24,

- Suppl. 14 : 104-110, 1965.
- 11) Zakariasen, K.L., Dederich, D.N., Tulip, J., DeCoste, S., Jensen, S.E. and Pickard, M.A. : Bactericidal action of carbon dioxide laser radiation in experimental dental root canals. *Can. J. Microbiol.*, 32 : 942-946, 1986.
 - 12) 鈴木和雄, 古賀ともゑ, 森岡俊夫 : 紫外エキシマーレーザーによる殺菌効果に関する研究. *日本レーザー医学会誌*, 3 : 625-630, 1982.
 - 13) 菱本久美朗, 桑原節子, 川那辺純一, 松本 洋 : 炭酸ガスレーザー光照射による殺菌効果の生物物理学的研究. *日本レーザー医学会誌*, 3 : 201-206, 1982.
 - 14) Marin, V.T.W., Corti, L. and Velussi, C. : An experimental study of the healing effect of the He-Ne laser and the infrared laser. *Lasers. Med. Sci.*, 3 : 151-163, 1988.
 - 15) Mester, E., Spiry, T., Szende, B. and Tota, J.G. : Effect of laser rays on wound healing. *Am. J. Surg.*, 122 : 532-535, 1971.
 - 16) Mester, E., Szende, B., Spiry, T. and Scher, A. : Stimulation of wound healing by laser rays. *Acta. Chir. Acad. Sci. Hung.*, 13 : 315-324, 1972.
 - 17) Iwase, T., Hori, N. and Morioka, T. : Possible mechanisms of the He-Ne laser effects on the cell membrane characteristics. *Laser. Med. Surg.*, 4 : 166-171, 1972.
 - 18) 平野泰之, 西方純一, 伊藤公二, 田中憲二, 伊藤公一, 村井正大 : Yellow He-Ne レーザーによる口腔細菌に対する殺菌効果. *日歯周誌*, 35 : 494-498, 1993.
 - 19) 平野泰之, 西方純一, 汐見 登, 岸田 修, 小幡純, 伊藤公一 : He-Ne レーザー照射による *Streptococcus mutans* PS 14 株に対する殺菌メカニズム. *日歯周誌*, 35 : 157-161, 1993.
 - 20) 西方純一 : クリスタルバイオレットとトリパンプルールの存在下における *Streptococcus mutans* に対する He-Ne レーザーの殺菌効果. *日歯周誌*, 35 : 48-53, 1993.
 - 21) 西方純一, 平野泰之, 伊藤公一, 高田 治, 成川勝一, 村井正大 : He-Ne レーザーの *Streptococcus mutans* に対する殺菌効果ならびにその殺菌メカニズムの検討. *日歯周誌*, 34 : 410-415, 1992.
 - 22) 岩瀬達雄, 奈良美夫, 森岡俊夫 : He-Ne 低出力レーザーの *S. mutans* に対する殺菌効果—特に照射時間との関係—. *口腔衛生会誌*, 36 : 448-449, 1986.
 - 23) Okamoto, H., Iwase, T. and Morioka, T. : Dyemediated bactericidal effect of He-Ne laser irradiation on oral microorganisms. *Lasers. Surg. Med.*, 12 : 450-458, 1992.
 - 24) Iwase, T., Saito, T., Nara, Y. and Morioka, T. : Inhibitory effect of He-Ne laser on dental plaque deposition in hamsters. *J. Periodont. Res.*, 24 : 282-283, 1989.
 - 25) Yamaguchi, H., Hirasawa, K., Tanaka, T., Shioiri, T. and Matsue, I. : The inhibitory effect of chlorhexidine digluconate on dental plaque formation. A scanning and transmission electron microscope study. *J. Periodontol.*, 52 : 630-638, 1981.
 - 26) Decampo, R., Moreno, S.N.J. and Cruz, F.S. : Enhancement of the cytotoxicity of crystal violet against *Trypanosoma cruzi* in the blood by ascorbate. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 27 : 241-248, 1988.
 - 27) 大柳善彦 : スーパーオキシサイドと医学, 第1版, 共立出版, 東京, 1981, 12-13.

連絡先 :

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座

〒 101-8310 東京都千代田区神田駿河台 1-8-13