

学位研究紹介

細菌汚染チタンインプラントに対する炭酸ガスレーザーの殺菌効果と照射領域への細胞付着

Bactericidal efficacy of carbon dioxide laser against bacteria-contaminated titanium implant and subsequent cellular adhesion to irradiated area

新潟大学歯学部歯科補綴学第二講座¹口腔細菌学講座²加藤 拓¹, 草刈 玄¹, 星野悦郎²Department of Fixed Prosthodontics¹,Department of Oral Microbiology²,

Niigata University School of Dentistry

Taku Kato, Haruka Kusakari, Esturo Hoshino

歯科用インプラントは歯牙欠損の補綴治療の一つとして広く臨床に応用され、良好な咬合機能の回復が享受され、多くの成功例を見る。しかしインプラントが細菌の存在する口腔と顎骨とを連絡させる構造である宿命として、インプラント周辺の細菌感染が考慮される必要があり、その良好な長期的成果により現在のインプラント治療の主流となっているオッセオインテグレートチタンインプラントにおいても細菌感染により炎症を起こす症例が見られる。インプラント周囲炎は臨床的、細菌学的、組織学的に歯周炎に極めて類似した状態を示すことから歯周治療に準じ治療が行われているが、インプラント表面には骨接触面積を増大させる目的で複雑な凹凸微細構造が付与されているものも多く、感染がその部位まで進行すると付着した細菌等の起炎物質の完全な除去が行いにくい。そこで本研究ではインプラント周囲炎治療の臨床的手法確立の基礎的研究として、CO₂レーザーを利用したチタンインプラント表面の殺菌とその際のチタン表面構造の変化、温度上昇、周囲細胞への傷害性および照射領域への歯周組織性細胞の付着について検討した。

材料と方法

1. 純チタンディスク（表面サンドブラスト処理、削りだし表面の2種）にCO₂レーザーをスポットサイズ1.1mmφ、フルエンス263~2632J/cm²で照射後、落射型顕

微鏡およびSEMにて表面構造の変化を観察。2. *Streptococcus sanguis* ATCC10556, *Porphyromonas gingivalis* 381の1×10⁸個の洗菌を純チタンディスク表面に塗布し、CO₂レーザーをスポットサイズ直径3.95mm、エネルギー15~40J、フルエンス122~327J/cm²で照射後、細菌を回収しCFUを算定。またその際のディスクの温度上昇を照射終了直後から40秒後までサーモグラフィーにて測定。3. *P. gingivalis* 1×10⁸個の洗菌をチタンディスクに塗布後、2と同条件にてレーザーを照射した後、マウス線維芽細胞様細胞(L-929)およびマウス骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)の48時間培養後の照射領域での生細胞率を、またMC3T3-E1についてはALP活性をLowry法および共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)にて測定。4. ディスク上の培養細胞に2と同条件で照射を行い、照射スポット外側の細胞を対象として生存率を測定、またPropidium Iodideおよびcalcein-AM染色後、CLSMにて観察。

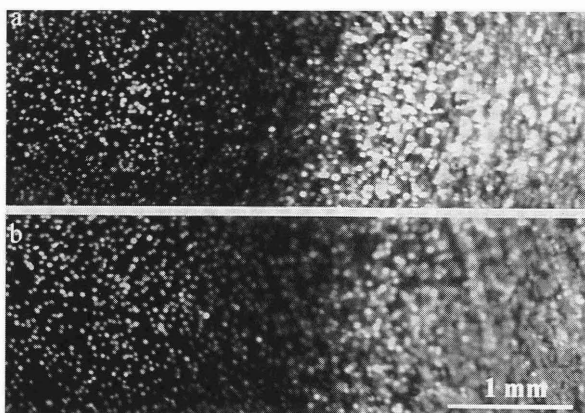
結果と考察

チタン表面は本実験条件における高フルエンスのCO₂レーザー照射によって変色や構造変化を起こさず、CO₂レーザーのエネルギーはチタンには吸収されにくいと考えられた。*S. sanguis* に対する殺菌率はフルエンス163J/cm²で90%、286J/cm²では100%、*P. gingivalis* 殺菌率は163J/cm²でほぼ100%であり、より少ないエネルギーで殺菌された。またチタンの表面構造の違いにより殺菌率に差はなく、レーザー光は微細構造間での反射により凹凸微細構造内へ入り込んだ細菌に対しても到達しているものと考えられた(Table 1)。チタンディスク表面の温度上昇は35J照射において最高でも照射中心部で約14℃であり、40秒後には照射前の温度に低下したことから、レーザーの殺菌効果は光熱効果による菌体内の瞬間的な水分の蒸発と細胞膜の変性によると考えられた。チタンディスクのスポット外部での温度上昇はスポット内部の1/3程度であり、熱伝導によって照射領域外の周囲組織に熱傷害は及ぼさないと考えられた。実際に20Jの照射における照射スポット外の培養細胞の生存率は約85-90%であり、CLSMでは細胞の生死がスポット内外で明確に分かれている像が観察され(Fig. 2)、レーザーの側方散乱による影響も少ないものと考えられた。レーザーにより殺菌された細菌あるいは菌体成分の残留している領域へのL-929, MC3T3-E1の付着、増殖、ALP活性は低エネルギーの照射でやや低下したもののコントロール群とほぼ同様であった。これらの結果から、CO₂レーザーをチタ

Table 1. Bactericidal efficacy of CO₂ laser for oral bacteria on titanium discs

Energy (J)	Fluence (J/cm ²)	Bacterial strain			
		S. sanguis ATCC 10556		P. gingivalis 381	
		Machined-Ti	Sandblasted-T	Machined-Ti	Sandblasted-Ti
Mean kill ± S. D. (%)					
15	122	74.2±8.2	80.2±7.8	98.6±0.6	98.7±0.8
20	163	88.4±6.8	89.5±7.3	99.9±0.1	99.8±0.1
25	204	96.1±2.9	94.9±5.7	99.9±0.0	99.9±0.0
30	245	99.6±0.3	99.6±0.6	100±0	100±0
35	286	100±0	100±0	100±0	100±0
40	327	100±0	100±0	100±0	100±0

(n=5; S. sanguis or 3; P. gingivalis)

**Fig. 1.** Fluorescence photomicrographs of osteoblastic cells on Machined-Ti discs. Living and dead cells were stained by calcein-AM and PI, respectively. a : 163 J/cm², b : 245 J/cm².

インプラント体にスポットを広げて直接照射した場合、照射範囲外の付着組織に及ぼす影響は比較的少なく効率良く殺菌ができ、またその後の細胞付着にも影響が少ないと思われた。このことからインプラント周囲炎治療へのCO₂レーザーの応用の可能性が示唆された。