

# Synergistic effects of Er:YAG laser irradiation in combination with desensitizer on the occlusion of exposed dentinal tubules : an in vitro study

佐藤, 浩美  
九州大学大学院歯学府

<https://doi.org/10.15017/26329>

---

出版情報 : 九州大学, 2012, 博士 (歯学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

Er:YAG レーザーと知覚過敏抑制剤を併用  
した象牙細管封鎖効果に  
関する研究

2013 年

佐藤 浩美

九州大学大学院歯学府歯学専攻

九州大学大学院歯学研究院

口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野

指導教員 赤峰 昭文 教授

本研究内容の一部は、下記の論文に投稿中である.

「Synergistic effects of Er:YAG laser irradiation in combination with desensitizer on the occlusion of exposed dentinal tubules: an *in vitro* study」

Hiromi Sato, Yoshito Yoshimine, Himeka Matsumoto, Yuki Arai, Chikako Hirai, Akifumi Akamine

Photomedicine and Laser Surgery (submitted)

本研究内容の一部は、下記の学会において報告した.

- ・ 第23回日本レーザー歯学会総会・学術大会 大阪市 2011年 12月

「Er:YAGレーザーによる象牙細管封鎖効果に関する研究」

- ・ 第10回日韓合同歯内療法学会 ソウル 2012年 3月

「The Combined Effects of an Er:YAG Laser and Oxalate-based Desensitizer on the Occlusion of Exposed Dentinal Tubules *in Vitro*」

- ・ 第136回日本歯科保存学会2012年度春季学術大会 宜野湾市

2012年 6月

「Er:YAGレーザーと知覚過敏抑制剤を併用した象牙細管封鎖効果」

# 目次

1	要旨	1
2	緒言	3
3	材料と方法	5
3-1	試料作製	
3-2	レーザー装置	
3-3	実験グループ	
3-4	実験1 形態観察	
3-5	実験2 元素分析	
3-6	統計学的分析	
4	結果	11
4-1	実験1 被照射面の超微形態	
4-2	実験2 元素分析	
5	考察	15
6	総括	18
7	謝辞	19
8	参考文献	20

# 1. 要旨

象牙質知覚過敏症 (Dentin hypersensitivity, 以下 DH) は一過性の鋭い疼痛を特徴とし、日常の臨床で遭遇する機会の多い疾患の 1 つである。その治療法は、一般的に歯磨剤や塗布用の知覚過敏抑制剤が使用されているが、簡便性に優れる反面、効果が一時的で不確実な傾向がある。近年、DH の改善にレーザーを応用する治療法が期待され、臨床における有効性も報告されている。その作用機序として、象牙細管の封鎖作用や歯髄神経の鈍麻作用などが考えられている。しかしながら、生体への為害作用が少ない Er:YAG (エルビウムヤグ) レーザーを用いた DH 治療への応用例や、レーザーと知覚過敏抑制剤を併用した報告はほとんど見られない。

本研究では、象牙細管を開口させた試料に、Er:YAG レーザーを低出力照射した場合、またはレーザー照射と知覚過敏抑制剤 (シュウ酸製剤) を併用した場合の象牙質表層部の形態および組成変化を解析し、象牙細管の封鎖効果を検証した。

15%EDTA 溶液に 30 秒間浸漬することで象牙細管を開口させたウシ象牙質プレートに、Er:YAG レーザーを 30 mJ・10 pps の条件で 3 cm の距離からデフォーカス照射した。走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察したところ、象牙細管内に不定形の物質が観察された。また、照射時間が長いほど象牙細管径は減少し、閉塞された象牙細管の割合が多く認められた。SEM とレーザー顕微鏡による観察結果より、象牙細管の封鎖には象牙質表面に形成された熔融 (melting) 層が影響していることが分かった。エネルギー分散型 X 線分析装置を用いた元素分析では、レーザー照射群では表層の P と Ca の重量比が有意に増加していた。一方、Er:YAG レー

レーザーと知覚過敏抑制剤の併用群では、象牙細管内の結晶様構造物および表層での熔融層の形成が認められ、レーザー単独使用群と比べ有意に象牙細管の開口面積が低下していた。すなわち、併用群では象牙細管開口部が2段階に封鎖されていた。なお、照射部位には炭化・亀裂などの熱傷害は認められなかった。

以上の結果より、象牙細管が開口した象牙質表面にEr:YAGレーザーを照射すると、照射時間に応じて象牙細管の封鎖が亢進すること、並びに、レーザーと知覚過敏抑制剤の併用で、象牙細管の封鎖効果が増強されることが明らかとなった。

本研究により、DHの効果的治療法の1つとしてEr:YAGレーザーを応用する可能性を示すことができた。

## 2. 緒言

象牙質知覚過敏症 (Dentin hypersensitivity, 以下 DH) は特徴的な症状として一過性の鋭い痛みを感じ、他のいかなる歯科疾患にも属しないと定義されている<sup>1,2)</sup>。DHの原因は破折や酸蝕症などのエナメル質の欠損、並びに歯周病や過度のブラッシングによる歯肉退縮の2つに分類され、いずれも象牙質の露出を伴う<sup>3)</sup>。

DHのメカニズムの1つとして知覚過敏症歯に外部から物理的、温度的、そして化学的刺激が加わることにより象牙細管内液に動きが生じ、象牙芽細胞を取り巻く自由神経終末に刺激が加わり痛みが生じると言われている<sup>1,2,4-6)</sup>。また、Yoshiyamaら<sup>7,8)</sup>による*in vivo*の研究では、象牙質面の知覚過敏症状を示す範囲の75%の象牙細管は開口していると報告されている。

従って、DHに対する効果的な治療法として、開口した象牙細管を形態的に封鎖することで象牙細管内液の動きを抑制する方法が考えられる<sup>2,9)</sup>。一法として、フッ化ナトリウムやストロンチウム塩、または硝酸カリウムなどの知覚過敏鈍麻剤を含む歯磨剤が使用されている。さらには、シュウ酸製剤やフッ化物塩、またはボンディング材なども応用されている<sup>10-13)</sup>。しかしながら、これらの薬剤は簡便性に優れる一方で、その効果は一時的で不確実な傾向がある。すなわち、患者の不快感を解消し、長期持続性を発揮するような薬剤はほとんど見当たらないのが現状である。

近年、DH治療に対するレーザー応用の効果が期待されており、臨床における有効性も報告されている<sup>14-16)</sup>。DH治療に対するレーザーの主な作用メカニ

ズムとして、象牙質表面の熔融に伴う象牙細管開口部の狭窄・封鎖と象牙細管内液の凝固、並びに、透過性を有するレーザー光が歯髄神経まで直達することによる鎮静作用が挙げられる。これらの作用機序はレーザーの種類や照射条件で異なっている。このうち象牙細管を物理的に封鎖する方法が、DH の痛みを減少、または取り除くうえで最も効果的と考えられる。

本研究では開口した象牙細管に Er:YAG レーザーを低出力で単独照射した場合、さらにはシュウ酸製剤を併用した場合の象牙細管封鎖効果を、形態学的構造および化学的組成を調べることで評価した。



## 3. 材料と方法

### 3-1. 試料作製

冷凍保存した 42 本のウシ健全前歯を実験直前に解凍し、唇側エナメル質をダイヤモンドバーで削除して平坦な象牙質面を露出させた。次に、表面を耐水研磨紙（～＃800）で研磨し、8×8×2 mmの象牙質プレートを作製した。象牙細管を開口させるために、全ての試料を 15%EDTA 溶液に 2 分間浸漬した（図 1）。その後、滅菌蒸留水で超音波洗浄を行った。

### 3-2. レーザー装置

レーザー発振装置として Er:YAG（エルビウムヤグ）レーザー（Erwin AdvErl：モリタ）を使用した。チップを装着しないで、出力 30 mJ、繰り返し速度 10 pps、注水無しの条件で照射を行った。2 台のクランプ付複合軸ステージを用いて、ハンドピースと象牙質プレートとの距離を 3 cmの位置で固定した（図 2）。

### 3-3. 実験グループ

照射時間とシュウ酸製剤（SS）（スーパーシール：フェニックスデンタル）の使用の有無により、①30 秒照射、②60 秒照射、③SS 塗布、④SS 塗布+30 秒照射、⑤SS 塗布+60 秒照射の 5 つの条件に分けた（表 1）。メーカー規定の使用方法に従い、SS を象牙質面に 30 秒間刷り込んだ後、マイルドエアーを 30 秒間かけた。

### 3-4. 実験1 形態観察

各条件の処理後に、試料を24時間常温で乾燥し、金蒸着を行った。各条件につき6枚のプレートを走査型電子顕微鏡（SEM: JSM-5400LV, 日本電子）を用いて15kVの加速電圧で処理面の超微構造（3,500×）を観察した。

次に、各試料の任意の1ヵ所からSEM像（1,500×）を選択し、画像解析用PCに取り込み、表層部における象牙細管開口部の面積を計測した。各象牙細管の開口面積は解析ソフト（Image-J, NIH）を使用して自動解析を行った。すなわち、象牙細管を黒色、それ以外の部位を白色の2値化像に変換し、黒色部を象牙細管開口面積とした（図3）。像の縁部に位置する象牙細管は除外し、完全に封鎖された象牙細管を「0」とカウントした。各象牙細管の面積を自動的に計算した後、各グループにおける象牙細管開口面積の平均値を算出した。

### 3-5. 実験2 元素分析

コントロール、グループ①、グループ②の象牙質プレート（n=2）を24時間常温で乾燥し、カーボン蒸着を行った。走査型電子顕微鏡（SS550, 島津製作所）付属のエネルギー分散型X線分析装置（Energy Dispersive X-ray Spectrometry, 以下EDX）による元素の定量分析を1枚のプレートにつき4ヵ所を行った。

### 3-6. 統計学的分析

象牙細管開口部の面積および元素の定量分析におけるグループ間の差に関して、Tukey-Kramer法による多重比較検定を行った。

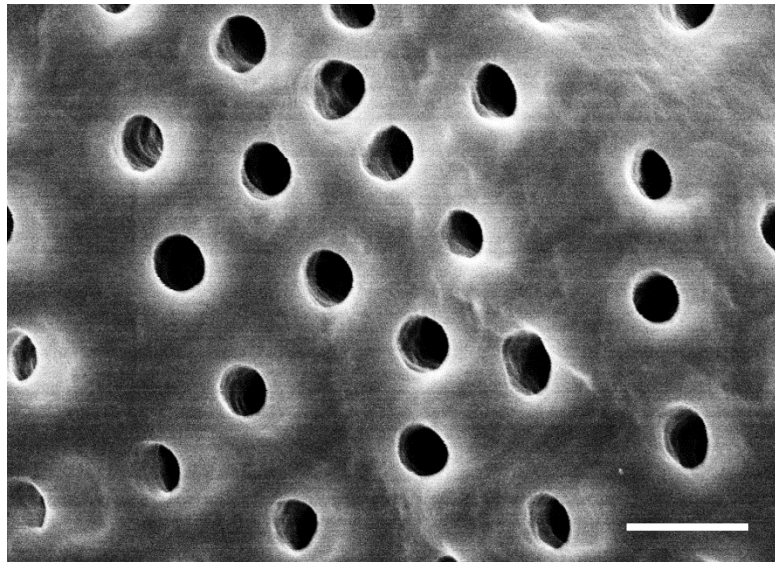


図1 EDTA 処理後の SEM 像 (コントロール)

開口した象牙細管を明瞭に認める.

Bar=10  $\mu$ m

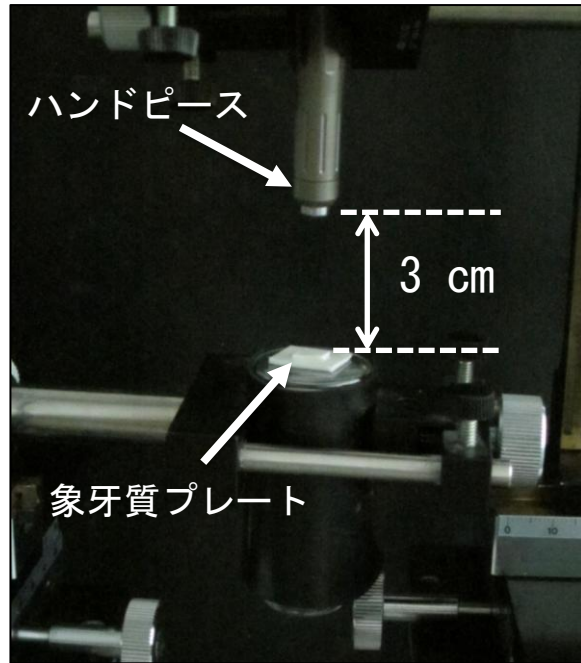


図2 実験装置

Er:YAG レーザーのハンドピースと象牙質プレートの距離を 3 cm の位置で固定した.

グループ	
①	30秒照射
②	60秒照射
③	SS塗布
④	SS塗布+30秒照射
⑤	SS塗布+60秒照射

表 1 実験グループ

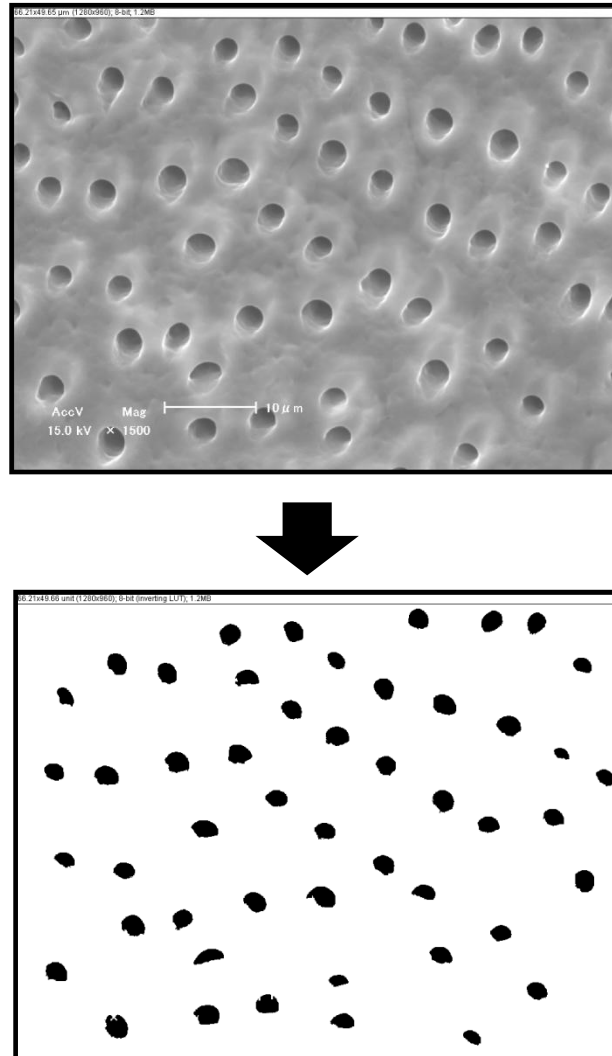


図3 画像解析用の2値化像

象牙細管を黒色，それ以外の部位を白色の2値化像に変換し，黒色部を象牙細管開口面積とした。

## 4. 結果

### 4-1. 実験1 被照射面の超微形態

#### (1) SEM 像

象牙質プレートの被照射面の SEM 像を図 4 に示す。グループ①, ②において象牙細管は象牙質表層の熔融や象牙細管内物質の凝固によって部分的に封鎖されていた。グループ③は結晶様構造物が象牙細管内に認められた。グループ④, ⑤には結晶様構造物と熔融層が象牙質表面に認められ、グループ⑤において象牙細管の封鎖を認めた。

#### (2) 象牙細管開口面積

各グループにおける象牙細管開口面積を表 2 に示す。全てのグループの象牙細管開口面積の平均値は有意にコントロールよりも小さかった ( $p < 0.05$ )。グループ①と②, ⑤間, グループ②と③, ④間, グループ③と⑤間, グループ④と⑤間では、象牙細管開口面積に有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。

### 4-2. 実験2 元素分析

各グループにおける元素分析の解析結果を表 3 に示す。グループ①と②では、コントロールに比べて P と Ca の重量%が有意に増加した ( $p < 0.05$ )。Ca/P 比はグループ間に有意差を認めなかった ( $p > 0.05$ )。

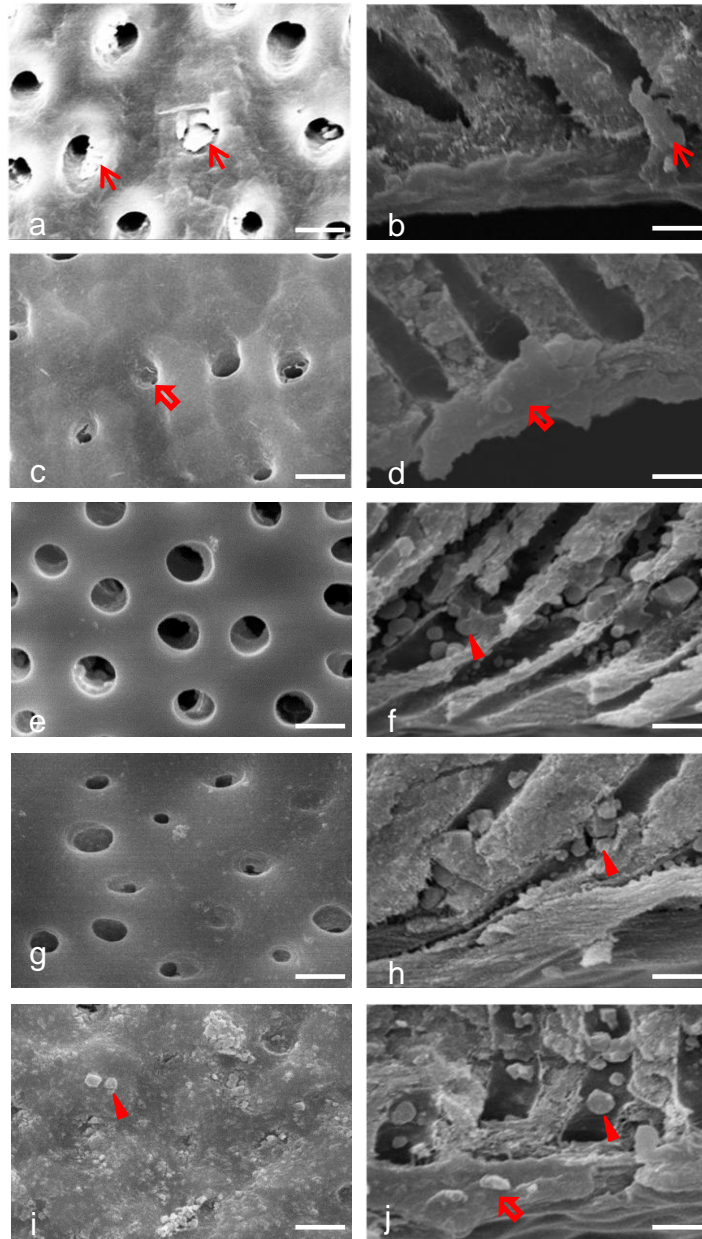


図4 各グループのSEM像

- a, b: グループ① 象牙細管内に凝固物を認める (↑).
- c, d: グループ② 象牙質表層の熔融により象牙細管開口部の封鎖を一部認める (↑).
- e, f: グループ③ 象牙細管内に結晶様構造物を認める (▲).
- g, h: グループ④ 象牙細管開口部の一部は狭窄し、結晶様構造物を認める (▲).
- i, j: グループ⑤ 結晶様構像物 (▲) と熔融層を認める (↑).
- (b, d, f, h, j: 断面像) (Bars=50 μm)



グループ	n	面積 (μm <sup>2</sup> )
コントロール	323	3.07 ± 1.06
①	324	2.54 ± 1.52
②	329	1.46 ± 1.26
③	342	2.74 ± 1.66
④	343	2.57 ± 1.66
⑤	348	1.27 ± 1.20

\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$

表2 象牙細管開口面積

コントロールと全てのグループ間，グループ①と②，⑤間，グループ②と③，④間，グループ③と⑤間，グループ④と⑤間では，象牙細管開口面積に有意差を認める。

- ① : 30 秒照射
- ② : 60 秒照射
- ③ : SS 塗布
- ④ : SS 塗布+30 秒照射
- ⑤ : SS 塗布+60 秒照射

	コントロール	①30秒照射	②60秒照射
Ca (重量%)	20.18 (0.64)	26.74 (2.05)	23.33 (2.23)
P (重量%)	11.42 (0.34)	14.64 (0.79)	12.72 (0.60)
Ca/P比	1.77 (0.03)	1.83 (0.04)	1.83 (0.10)

\*:  $p < 0.05$

表 3 元素分析

コントロールに対して、グループ①、②ではPとCaの重量%は有意に増加しているが、Ca/P比はグループ間に有意差を認めない。

## 5. 考察

昨今の歯科用レーザーを用いた研究成果により、DH の効果的治療法の一つとしてレーザー応用の期待が高まっている<sup>15,17,18)</sup>。しかしながら、レーザーの機種によっては熱の影響が強く、炭化や亀裂、さらには歯髄への不可逆的変化を引き起こすことが懸念されている<sup>19)</sup>。歯科用レーザーのうち、Er:YAG レーザーは水やヒドロキシアパタイトに高い吸収特性を示し<sup>20)</sup>、歯髄への直接的影響はほとんどないと言われている。さらに、本研究ではレーザーのハンドピースと象牙質プレート間を一定の距離に保つことで、被照射面に到達するレーザーのエネルギー密度が低くなるように配慮した。

本研究では被験材料として牛歯を使用することで、広い観察面を確保することができた。Camargo ら<sup>21)</sup>は SEM 観察により、ウシとヒトの歯の象牙細管径における統計学的有意差はないと報告している。

本研究結果から、Er:YAG レーザーを照射することで象牙細管は封鎖または狭窄することが明らかとなった。Er:YAG レーザーの象牙細管封鎖効果の主な要因として、レーザー照射による熱の影響で象牙細管内の水分蒸散と有機質成分の付着・堆積、さらには象牙質表面の熔融が生じたと考えられる。Badran ら<sup>15)</sup>は、レーザー熱に由来する象牙質表面の熔融による象牙細管封鎖効果は照射時間に比例することを報告している。また、元素分析の結果からレーザー照射群において有意に P と Ca の重量%が増加していたが、この理由として注水無しでレー

レーザー照射を行うと表層の温度が上昇し、有機質成分が熔融・蒸散され、相対的に無機物の重量%が増加したと考えられる。

レーザーを臨床応用する上で、歯周組織や歯髄に対する熱の影響に配慮する必要がある。Zachら<sup>22)</sup>は歯髄内の温度上昇が11℃以上になるとき、歯髄組織の60%が壊死を起こすが、5℃以下であれば歯髄への影響はほとんどないと報告している。Nalbantgil<sup>23)</sup>らはレーザーの照射時間に比例した被照射面の温度上昇を確認し、さらに、Er:YAGレーザーを動かしながら使用することでほとんど熱の影響を与えないと報告している。これらの報告から、歯髄に対する熱の影響が少なく、かつ象牙質表層に限局してわずかに熔融層が生じることが望ましいと考えられる。本研究では、SEM像において被照射面の熔融像が観察されたが、炭化や亀裂などの強い熱傷害は認められなかった。

さまざまな知覚過敏抑制剤が古くからDH治療に使用されている。本研究では、シュウ酸製剤を使用した。3%シュウ酸カリウムの働きでDHは軽減することが報告されている<sup>10)</sup>。この作用機序として、シュウ酸が象牙質表面や象牙細管内のカルシウム成分と反応し、シュウ酸カルシウム結晶を形成して象牙細管の封鎖に働くと考えられている。しかしながら、形成されたシュウ酸カルシウム結晶はブラッシングなどの機械的作用により除去されやすいため、効果の持続性は低いと言われている。

Ipciら<sup>24)</sup>はEr:YAGレーザーとNaFジェルを併用すると、各々を単独で使用したときよりもDHに対する効果は増大したと報告している。しかしながら、知覚過敏抑制剤とEr:YAGレーザーを併用した場合の象牙細管封鎖性に関する形態学的評価を行った報告は今までみられない。本研究の割断した根管のSEM像より、

シュウ酸製剤を使用した後にレーザー照射を行うと、象牙細管内へのシュウ酸カルシウム結晶の沈着に加えて、象牙質表面に熔融層が形成されることで2重の封鎖効果が期待できると考えられる。さらに、この熔融層は象牙細管外へのシュウ酸カルシウム結晶の排出を防ぐことで、その効果が持続する可能性がある。

Er:YAG レーザーの象牙細管封鎖効果と周囲組織への安全性は、適切な照射条件や被照射面の状態に大きく依存している。このため、歯髄への熱傷害を最小限に抑え、かつ象牙細管を効果的に封鎖するのに最適な条件を今後さらに探索する必要があると考えられる。

## 6. 総括

本研究では、DHモデルとして象牙細管を開口させた象牙質プレートを用いて、Er:YAG レーザーを低出力照射した場合、またはレーザー照射に知覚過敏抑制剤を併用した場合の象牙質表層部の形態観察と、象牙細管開口部の面積および化学的組成変化の統計学的解析を行った。その結果、以下のように総括する。

- 1) 象牙細管が開口した象牙質表面に Er:YAG レーザーをデフォーカス照射すると、照射時間に応じて段階的に象牙細管が封鎖されることが明らかとなった。
- 2) 知覚過敏抑制剤（シュウ酸製剤）の塗布後にレーザー照射を行うと、象牙細管内に析出したシュウ酸カルシウム結晶による封鎖に加えて表層に熔融層が形成されるため、象牙細管の封鎖効果が増強される可能性が示唆された。
- 3) Er:YAG レーザーを注水無しで照射することにより、象牙質表層の成分比率に変化が生じることが明らかとなった。

## 7. 謝辞

本研究は、九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野 赤峰昭文教授のご指導のもとに行われたものであり、先生の懇篤なご指導、ご助言、ならびに御校閲に深く感謝致します。また、本研究を遂行するにあたり終始御指導を賜りました九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野 吉嶺嘉人准教授に厚く感謝致します。最後に、九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野、ならびに九州大学病院歯内治療科教室員の皆様方に心より御礼申し上げます。

## 8. 参考文献

- 1)Dowell P, Addy M. Dentine hypersensitivity--a review. Aetiology, symptoms and theories of pain production. J Clin Periodontol 1983;10:341-50.
- 2)Porto IC, Andrade AK, Montes MA. Diagnosis and treatment of dentinal hypersensitivity. J Oral Sci 2009;51:323-32.
- 3)Addy M. Tooth brushing, tooth wear and dentine hypersensitivity--are they associated? Int Dent J 2005;55:261-267.
- 4)Brännström M, Aström A. A study on the mechanism of pain elicited from the dentin. J Dent Res 1964;43:619-25.
- 5)Brännström M, Lindén LA, Aström A. The hydrodynamics of the dental tubule and of pulp fluid. A discussion of its significance in relation to dentinal sensitivity. Caries Res 1967;1:310-317.
- 6)Sauro S, Gandolfi MG, Prati C, Mongiorgi R. Oxalate-containing phytocomplexes as dentine desensitisers: an in vitro study. Arch Oral Biol 2006;51:655-664.
- 7)Yoshiyama M, Masada J, Uchida A, Ishida H. Scanning electron microscopic characterization of sensitive vs. insensitive human radicular dentin. J Dent Res 1989;68:1498-1502.
- 8)Yoshiyama M, Noiri Y, Ozaki K, Uchida A, Ishikawa Y, Ishida H. Transmission electron microscopic characterization of hypersensitive human radicular dentin. J Dent Res 1990;69:1293-1297.
- 9)Pashley DH. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. J Endod 1986;12:465-474.
- 10)Pillon FL, Romani IG, Schmidt ER. Effect of a 3% potassium oxalate topical application on dentinal hypersensitivity after subgingival scaling and root planing. J Periodontol 2004;75:1461-1464.



- 11) Singal P, Gupta R, Pandit N. 2% sodium fluoride-iontophoresis compared to a commercially available desensitizing agent. *J Periodontol* 2005;76:351-357.
- 12) Orchardson R, Gillam DG. The efficacy of potassium salts as agents for treating dentin hypersensitivity. *J Orofac Pain* 2000;14:9-19.
- 13) Wara-aswapati N, Krongnawakul D, Jiraviboon D, Adulyanon S, Karimbux N, Pitiphat W. The effect of a new toothpaste containing potassium nitrate and triclosan on gingival health, plaque formation and dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol* 2005;32:53-58.
- 14) Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol* 2000;27:715-721.
- 15) Badran Z, Boutigny H, Struillou X, Baroth S, Laboux O, Soueidan A. Tooth desensitization with an Er:YAG laser: in vitro microscopical observation and a case report. *Lasers Med Sci* 2011;26:139-142.
- 16) Zeredo JL, Sasaki KM, Fujiyama R, Okada Y, Toda K. Effects of low power Er:YAG laser on the tooth pulp-evoked jaw-opening reflex. *Lasers Surg Med* 2003;33:169-172.
- 17) Aranha AC, de Paula Eduardo C. Effects of Er:YAG, Er,Cr:YSGG lasers on dentine hypersensitivity. Short-term clinical evaluation. *Lasers Med Sci* 2012;27:813-818.
- 18) Dilsiz A, Aydin T, Canakci V, Cungormus M. Clinical evaluation of Er:YAG, Nd:YAG, and diode laser therapy for desensitization of teeth with gingival recession. *Photomed Laser Surg* 2010;Suppl 2: S11-7
- 19) Goldman L, Gray JA, Goldman J, Goldman B, Meyer R. Effect of laser beam impacts on teeth. *J Am Dent Assoc* 1965;70:601-606.
- 20) Colucci V, do Amaral FL, Pécora JD, Palma-Dibb RG, Corona SA. Water flow on erbium:yttrium-aluminum-garnet laser irradiation: effects on dental tissues. *Laser Med Sci*

2009;24:811-818.

21) Camargo CH, Siviero M, Camargo SE, de Oliveira SH, Carvalho CA, Valera MC. Topographical, diametral, and quantitative analysis of dentin tubules in the root canals of human and bovine teeth. J Endod 2007;33:422-426.

22) Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1965;19:515-530.

23) Nalbantgil D, Oztoprak MO, Tozlu M, Arun T. Effects of different application durations of Er:YAG laser on intrapulpal temperature change during debonding. Lasers Med Sci 2011;26:735-740.

24) Ipci SD, Cakar G, Kuru B, Yilmaz S. Clinical evaluation of lasers and sodium fluoride gel in the treatment of dentine hypersensitivity. Photomed Laser Surg. 2009;27:85-91.