

## 論文の内容の要旨

氏名：井 比 陽 奈

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Hydroxyl radicals generated by sonolysis and photolysis of hydrogen peroxide exhibit bactericidal effect against *Enterococcus faecalis* in simulated endodontic conditions

（超音波照射と光照射によって過酸化水素水から産生されるヒドロキシラジカルは *Enterococcus faecalis* に対して歯内療法における条件下で殺菌効果を示す）

根尖性歯周炎の主な原因として、根管内の細菌およびその産生物などの病原性因子が挙げられる。感染根管治療の目的は病原性因子の除去と根管の緊密な封鎖であるが、根管系は複雑であり病原性因子を完全に除去することは困難である。そこで、感染根管治療において根管系を可及的に無菌状態にするため、多くの消毒用薬剤が使用されている。しかしながら、薬剤漏洩などによる根尖周囲組織への局所的有害作用、発癌性や突然変異誘発性などが指摘されており、生体安全性が担保された新たな根管消毒法を検討する必要がある。

近年、根管内の清掃剤への超音波照射により得られるキャビテーション効果を応用した根管清掃法（passive ultrasonic irrigation: PUI）が推奨されている。複雑な根管系に存在する病原性因子を除去するためには、各種根管治療用切削器具を利用した機械的清掃法と、同法の併用が有効と考えられている。一方、活性酸素種（reactive oxygen species: ROS）の一つである過酸化水素（hydrogen peroxide:  $H_2O_2$ ）に超音波を照射すると分解が促進し、異なる ROS が産生されて殺菌効果に寄与することが知られている。著者の所属する講座では、根管治療に頻用される根管清掃剤である  $H_2O_2$  に超音波を作用させることにより、ROS の一種であるヒドロキシラジカル（hydroxyl radical:  $HO\cdot$ ）が産生され、消毒・殺菌効果を示したことから歯内療法へ応用できる可能性について報告した。また、 $H_2O_2$  に紫外線照射を行うことによって  $HO\cdot$  が産生され、同様の殺菌効果を示すことも報告されている。そこで著者は、これまでの  $H_2O_2$  に対する超音波の応用に加え、歯の漂白に用いられる安全な LED 照射を併用した際の  $HO\cdot$  産生と口腔細菌に対する殺菌効果について検討した。

超音波発振装置は超音波ホモジェナイザー（Handy Sonic UR-20P, トミー工業）を用い、LED 光源としては Pencure 2000（波長 405 nm, モリタ製作所）を使用した。根管を模倣した試験管内に 0.5 および 1.0 M  $H_2O_2$  に調製した試験溶液に超音波照射（出力 10 および 20 W）と LED 照射を併用（1, 2 および 3 分間）し、 $HO\cdot$  測定用試料とした。LED 照射条件は、試験溶液に光源を側面中央部に近接照射する実験的照射条件と、歯内療法への応用を想定して黒色テープを試験管側面に巻いて上部から照射する歯内療法的照射条件の 2 方法で行った。 $HO\cdot$  の測定は、あらかじめ  $HO\cdot$  を特異的に捕捉するスピントラップ剤として 5-(2,2-dimethyl-1,3-propoxycyclophosphoryl)-5-methyl-1-pyrroline-*N*-oxide（CYPMPO）を加え、電子スピン共鳴（ESR）法を用いてスピニアダクトを検出し、その信号強度から産生された  $HO\cdot$  量を測定した。また、 $H_2O_2$  の代わりに Tris-HCl を用いた試験溶液、超音波単体および LED 単体で照射した試験溶液も同様に測定した。次に、産生された  $HO\cdot$  の代表的な難治性根尖性歯周炎の原因菌 *Enterococcus faecalis* JCM 5803 への影響について、菌懸濁液に対して同様の条件下で超音波照射と LED 照射を行った後、brain heart infusion 寒天培地に塗抹し、生菌数を colony forming unit として測定した。

その結果、実験的照射条件における  $HO\cdot$  量は、照射時間の延長に伴って有意に増加した。また、すべての照射時間で、1.0 M  $H_2O_2$  に超音波照射を行った群は 0.5 M  $H_2O_2$  群より産生された  $HO\cdot$  量は有意に高く、10 W の超音波出力よりも 20 W の方が  $HO\cdot$  量は高かった。歯内療法的照射条件では、産生された  $HO\cdot$  量は実験的照射群より低かったが、超音波出力および照射時間に及ぼす  $HO\cdot$  産生量は同様な傾向を示した。一方、Tris-HCl を用いた測定用試料では、ほとんど  $HO\cdot$  は検出されなかった。

*Enterococcus faecalis* への影響は、超音波照射と LED 照射を併用した場合、照射時間の延長に伴って

生菌数は減少し、出力や LED 照射条件にかかわらず 0.5 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> では 3 分間照射で、1.0 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> では 2 分間照射で生菌は認められなくなった。また、超音波照射のみでは 10 W の 1.0 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> で生菌数は 3 分で認められなくなったが、LED を併用することによって 2 分で同様な効果が得られ、殺菌時間の短縮が認められた。この殺菌効果は歯内療法を模倣した LED 照射条件でも、LED 光源を側面から近接照射させた実験的照射条件と同様な効果が得られた。一方、Tris-HCl および LED 照射のみの試験溶液では、超音波出力、照射時間および LED 照射条件にかかわらず、生菌数に対数レベルの変化は認められなかった。

以上の結果から、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> に対して超音波照射に LED 照射を併用することにより、HO<sup>·</sup> が効率的に産生され、*Enterococcus faecalis* に対して殺菌効果が示された。また、LED 照射の併用により、超音波のみで得られる殺菌効果と同等な効果を、短時間照射で得ることが可能であった。従って、本システムは新たな根管消毒法として臨床応用の可能性が示唆された。