

原 著

フラップ手術時における Er:YAG レーザー照射が露出セメント質表面の
リポポリサッカライド量に及ぼす影響

安 田 忠 司 佐 藤 匠

Effect of Er: YAG laser irradiation during flap surgery on dose of lipopolysaccharide that exists on the exposed cementum surface

YASUDA TADASHI, SATO TAKUMI

フラップ手術時に erbium-doped: yttrium, aluminum and garnet laser (EYL) を用いたデブライドメント後に露出セメント質表面のリポポリサッカライド (LPS) 量と臨床パラメーターを評価する。実験 1 では、広範型慢性歯周炎と診断された患者のうちフラップ手術が必要な 18 名を対象とした。歯肉弁剥離直後に 50ml 蒸留水にて洗浄後、スワブを露出セメント質に擦過させ LPS を採取した。その後、同部位をコットンペレットにて露出セメント質を清拭した後、ハンドスケーラーによる露出セメント質のデブライドメント後、EYL 照射後も同様に LPS を採取した。得られた試料は Limulus ameocyte lysate 法にてエンドトキシン活性をもつ LPS 量を定量した。その結果、歯肉弁剥離直後は 26.16 ± 22.45 EU/ml、水洗後は 8.91 ± 12.10 EU/ml、コットンペレットにて清拭後は 2.55 ± 2.74 EU/ml、scaling and root planing (SRP) 後は 0.32 ± 0.45 EU/ml、EYL 照射後は 0.01 ± 0.029 EU/ml であった。各過程による LPS 除去率は水洗後で $55.55 \pm 42.34\%$ 、コットンペレットにて清拭後は $84.99 \pm 16.86\%$ 、SRP 後は $91.07 \pm 22.01\%$ 、EYL 照射後は $99.29 \pm 2.72\%$ であった。実験 2 では実験群としてフラップ手術に EYL 併用群、対照群である EYL 未使用群共に各 10 名を被検者として選択した。術後 3 および 6 か月後の臨床パラメーターから gingival index (GI)、bleeding on probing (BOP)、probing depth (PD)、ならびに clinical attachment level (CAL) に有意差はみられなかった。本研究結果から本スワブを擦過することにより露出セメント質表面の LPS を検出することができた。またフラップ手術時に SRP と EYL 照射の併用は露出セメント質表面に付着している LPS の除去に効果的であるものの EYL の使用の有無による術後 3 および 6 か月後の GI、BOP、PD ならびに CAL に差はみられなかった。

キーワード: Er:YAG レーザー, フラップ手術, リポポリサッカライド

In the present study, the amount of lipopolysaccharide (LPS) on the exposed cementum surface of restored teeth after debridement using an erbium-doped: yttrium, aluminum, and garnet laser (EYL) during flap surgery and the clinical parameters were assessed. In the first experiment, 18 patients with extensive chronic periodontitis requiring flap surgery were included. Immediately after the gingival flap was stripped and washed with 50 mL of distilled water, the exposed cement was rubbed with a swab to collect LPS. After that, LPS was similarly collected from the same area following each of the following processes: wiping off the exposed cementum surface with cotton pellets, debridement of the exposed cementum surface by a hand scaler, and irradiation by the EYL. The collected samples were then used to quantify LPS with endotoxin activity by using the Limulus ameocyte lysate method. In the second experiment, 10 patients were included in each of the groups; 10 patients from the experimental group in which the EYL was used and a control group of 10 patients in which the EYL was not used during flap surgery. The results in the first experiment showed values of 26.16 ± 22.45 EU/mL immediately after stripping the gingival flap,

8.91 ± 12.10 EU/mL after washing with distilled water, 2.55 ± 2.74 EU/mL after wiping off with cotton pellets, 0.32 ± 0.45 EU/mL after scaling and root planing (SRP), and 0.01 ± 0.029 EU/mL after EYL irradiation. The LPS elimination rate was 55.55% ± 42.34% after washing with water, 84.99% ± 16.86% after wiping off with cotton pellets, 91.07% ± 22.01% after SRP, and 99.29% ± 2.72% after EYL irradiation. In the second experiment, no significant differences were noted in the gingival index (GI), bleeding on probing (BOP), probing depth (PD), and clinical attachment level (CAL) scores as the clinical parameters 3 and 6 months following surgery. The results of this study showed that LPS on the exposed cementum surface could be detected by rubbing with the swab. In addition, the combined use of SRP and EYL irradiation was effective in eliminating LPS adhering to the exposed cement surface; however, there were no differences were noted in the GI, BOP, PD, and CAL scores 3 and 6 months after following surgery, regardless of the use of the EYL.

Key words : Er: YAG laser, gingival flap surgery, lipopolysaccharide

緒 言

近年, Er:YAG レーザー (EYL) が歯周治療へ臨床応用されており特に歯周治療において歯石除去, 歯肉および小帯の切除, インプラント周囲炎に有効であると報告されている¹⁻⁶⁾. また, 歯周外科処置において EYL を併用した露出セメント質のデブライドメントが行われている⁷⁻⁹⁾. その作用機序は 2.94 μm のパルス波で振動され, 水への吸収性が高く生体組織の表面で吸収され水分の気化にともない微小爆発を生じ, 組織破壊を起こすことが知られている^{10, 11)}. 硬組織に照射する場合, 注水下での露出セメント質, 象牙質の変性層は約 5 ~ 15 μm と報告している^{12, 13)}. そして歯石除去に使用する事により過剰なセメント質の除去がないことを報告している^{14, 15)}. *Porphyromonas gingivalis*, *A. ggregatibacter*, *actionomycetemcomitans* を塗布した血液寒天培地にエネルギー密度 0.3J/cm², 1パルスの EYL を照射したところ明瞭な発育阻止円が観察され, 10.6J/cm²1パルスの照射で 83% の細菌を死滅させる殺菌効果を認めている¹⁶⁾. また動物実験においてフラップ手術に EYL を用いたデブライドメントはキュレットのみの場合より歯槽骨を再生し歯周病治療に効果的であることが示されている¹⁷⁾.

歯周病は歯周ポケット内へのグラム陰性嫌気性桿菌の感染による病変であり, それらの細菌とリポポリサッカライド (LPS) の除去が重要である¹⁸⁾. LPS は蛋白質, リン脂質とともにグラム陰性菌外膜の主要構成成分であり, 外膜のバリアー機能の維持など細菌にとって重要である¹⁹⁻²¹⁾. グラム陰性菌が生体に侵入すると発熱や炎症, ショックを起こすがこれらの反応は主に LPS により引き起こされており, その他マイトジェン活性, 非特異的免疫反応の活性化, アジュバンド作用, マクロファージ活性化, 補体活性化など

の生物活性も有する²²⁻²⁶⁾. また LPS は破骨細胞分化因子 mRNA レベルを上昇させ歯周疾患の免疫に重要な役割を果たしている²⁷⁾. LPS は露出セメント質の深部に浸透し, 新付着を妨げる因子の一つになっている^{28, 29)} と考えられてきたが, Hughes らによる免疫組織化学的研究, Moore, 大竹らの研究により LPS は露出セメント質表面に弱く付着しているとの報告が数多くみられるようになってきた³⁰⁻³³⁾. しかしながら, Adriaens らは走査型電子顕微鏡像から細菌自体が露出セメント質の深部にまで侵入していると報告している³⁴⁾. また須田らは歯周病に罹患した歯の露出セメント質に *P.gingivalis* 由来 LPS の局在を検索した結果, LPS の大部分は露出セメント質表面に局在し, その付着力は非常に弱いものであると報告した³⁵⁾. このように露出セメント質における LPS の存在に関する論文は数多くある. そして, EYL 照射後により LPS を除去する報告があるものの, フラップ手術時に EYL を用いたデブライドメントの露出セメント質表面の LPS 量に及ぼす影響を評価した報告はない^{14, 36-38)}. そこで, 我々はフラップ手術中にデブライドメントによる露出セメント質表面の LPS を定量し臨床評価に及ぼす影響について検討することを目的とした.

対象および方法

1. 被験者

朝日大学歯学部附属病院歯周病科を 2015 年 8 月から 2018 年 3 月に受診し広範囲慢性歯周炎と診断された患者のうちフラップ手術が必要であり, ①半年以内に抗菌薬の投与を受けていない, ②全身的に健康である, ③非喫煙者である, ④妊娠していないというすべての条件を満たした 18 名 (男 8 名, 女性 10 名, 平均年齢 56.3 ± 9.92 歳) を実験 1 の被験者とした. 実験 2 も同条件とし, 実験群であるフラップ手術に EYL 併

用した群は、男 4 名、女性 6 名の合計 10 名、平均年齢 52.0 ± 9.8 歳を被検者とした。対照群である EYL 未使用群は男性 4 名、女性 6 名の合計 10 名、平均年齢 54.6 ± 8.8 歳を被検者とした。研究資料から個人が特定されることのないよう、個人情報の保護を徹底した。また、本研究の研究スケジュールは朝日大学歯学部倫理委員会において承認された（承認番号：27001）。

2. LPS 採取と定量方法

図 1-A, B に根表面の LPS 採取に用いた柔軟性のある軸の先端部に繊維を取り付けた植毛タイプ

(FLOQSwabs™56780CS01, COPAN) のダクロン樹脂製スワブを示す。図 1-C に本スワブを用い LPS を採取している臨床例を示す。LPS 採取方法はフラップ手術時に露出セメント質の表面をエアにて乾燥させ、周囲の弁や唾液に触れないよう 5 秒間擦過後、採取し LPS フリー蒸留水 1ml (大塚蒸留水, 大塚製薬株式会社, 東京) にて溶解させ試料に含まれる LPS 量を Limulus amoebocyte lysate assay にて定量した。試料は 2 回採取し平均値を LPS 量とした。LPS の定量は株式会社ビー・エム・エル (東京) に委託した。

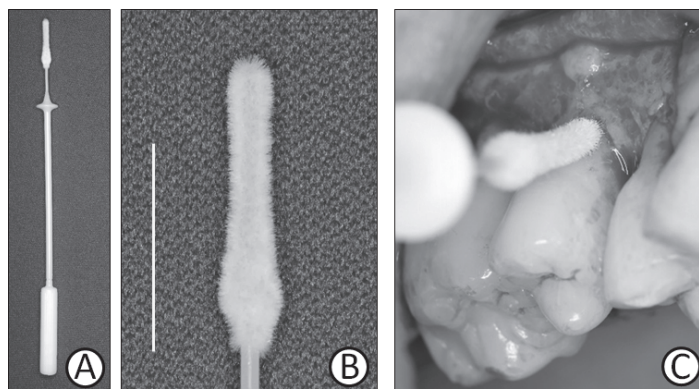


図 1 本研究で LPS 採取時に使用したスワブと術中写真

(A) : LPS 採取時に使用したスワブの全体像

(B) : スワブ先端部の拡大像

(C) : フラップ手術中に LPS を採取している写真

スケールバーは 1cm

3. 実験 1 フラップ手術時における根表面の LPS 量

浸潤麻酔後、Simplified Papilla Preservation Technique および Modified papilla preservation を用い歯間乳頭部の切開を行った。粘膜骨膜弁後、①欠損部位に面した露出セメント質表面をスワブにて 5 秒間擦過させ露出セメント質表面に存在する LPS を採取した。1ml の LPS フリー蒸留水中に LPS を採取したスワブを希釈し試料とした。その後、② 50ml の LPS フリー蒸留水にて洗浄し同様に LPS を採取した。次に③コットンペレット (モリタ, 京都) にて露出セメント質を清拭したのち LPS を採取した。次に④ハンドスケーラー (Hu-Friedy 社製, 米国) による露出セメント質のデブライドメントを行ったのち LPS を採取した。さらに⑤ EYL 照射後 LPS を採取した。すなわち 1 症例につき 5 回採取した。EYL 装置 (Erwin AdvErL EVO, モリタ, 京都) は非接触で、露出セメント質に対して約 $15 \sim 30^\circ$, 1mm / s の速

度, sweeping motion にて照射した。露出セメント質のデブライドメントは蒸留水注水下 (目盛: エア 10, 水 7) にてパネル値 $80 \sim 100 \text{mJ/pulse}$, 25pps の条件で行った。骨欠損の形態に合わせ、コンタクトチップ (モリタ, 京都) は PS600T, CS600F を使用した。各患者に新しいコンタクトチップを使用した。不良肉芽の搔爬はハンドスケーラーで行い単純縫合にて閉創した。術後に抗菌薬と抗炎症薬を投与し、抜糸は創面の状態を確認し、約 2 週間後に行った。

4. 実験 2 研究スケジュールと臨床測定項目

実験 2 は根表面の LPS 量の違いが臨床的評価に及ぼす影響について評価した。すなわち EYL 照射群と EYL 未使用群に分け、デブライドメント後 LPS を採取し定量した。臨床的評価として歯周基本治療終了時、オペ後 3 か月、オペ後 6 か月に以下の臨床パラメーターを測定した。Williams 型プローブ (Hu-Friedy

社製, 米国) を用いて6点法により, プロービングポケットデプス (PD), クリニカルアタッチメントレベル (CAL), プロービング時出血 (BOP) 部位の割合を測定した. Plaque Index (PII), Gingival Index (GI) は Silness と Löe による方法を用いた⁴⁰⁾. これらの検査は, 1名の歯科医師が行った. 歯周外科治療は, 実験1と同様に行い, 歯周組織再生療法を行った症例は除外した. 術後は, 1か月に1度来院させ徹底した口腔ケアを行った.

5. 統計処理

フラップ手術時における各処置後のLPS量の比較にはSteel-Dwass法を用いた. 年齢および臨床パラメーターは, スチューデントのt検定を用いて行った. さらに, カイ二乗検定を, ベースラインにおけるBOP陽性率の比較に用いた.

結 果

実験1 露出セメント質のLPS量の検出

フラップ手術時における露出セメント質表面のLPS

量を検出した結果を表1に示す. 歯肉弁剥離直後は 26.16 ± 22.45 EU/ml, 水洗後は 8.91 ± 12.10 EU/ml, コットンペレットにて清拭後は 2.55 ± 2.74 EU/ml, SRP後は 0.32 ± 0.45 EU/ml, EYL照射後は 0.01 ± 0.029 EU/mlであった. 除去率は水洗後で $55.55 \pm 42.34\%$, コットンペレットにて清拭後は $84.99 \pm 16.86\%$, SRP後は $91.07 \pm 22.01\%$, EYL照射後は $99.29 \pm 2.72\%$ であった. 統計学的分析の結果, 水洗後とコットンペレットにて清拭後の比較のみ有意差は認めず, それ以外の項目による比較では, すべてに有意差を認めた ($p < 0.05$). 水洗後とSRP後, EYL後を比較すると有意差を認めた ($p < 0.05$). コットンペレットにて清拭後とSRP後, EYL後を比較すると有意差を認めた ($p < 0.05$). SRP後とEYL後を比較すると有意差を認めた ($p < 0.05$). 水洗後とコットンペレットにて清拭後を比較すると有意差は認められなかった. 水洗により89%の症例でLPS量の減少を認めた. SRPによりすべての症例でLPS量の減少を認め, 94%の症例で1 EU/mL以下になった. EYL照射により72%の症例で検出限界以下になった.

表1 フラップ手術時の各処置後のLPS量 (EU/mL)

歯種	歯肉弁剥離直後	水洗後	コットンペレットにて清拭後	SRP後	EYL後
6	34.129	37.756	0.798	0.109	-
5	67.070	42.148	5.783	0.032	-
5	30.449	9.670	4.835	0.173	-
5	73.255	5.085	4.662	0.021	-
6	8.381	0.455	0.485	0.228	0.081
5	0.837	0.354	0.190	0.684	0.097
6	8.917	5.399	0.727	0.068	0.010
6	18.405	2.445	0.156	0.063	-
6	25.975	0.566	0.369	0.544	-
4	22.439	0.313	0.182	0.702	-
6	2.254	1.247	4.337	0.698	-
5	19.960	10.900	0.199	0.189	-
3	26.039	11.609	6.438	1.832	-
2	29.104	14.122	9.112	0.100	-
5	7.006	6.774	3.850	0.186	0.003
4	3.505	5.353	0.345	0.069	0.004
6	25.006	0.463	2.134	0.001	-
5	68.155	5.799	1.380	0.025	-
平均値±標準偏差	26.16±22.45	8.91±12.10	2.55±2.74	0.32±0.45	0.0110±0.029
除去率±標準偏差		55.55±42.34	84.99±16.86	91.07±22.01	99.29±2.72

-は検出限界以下を示す. LPS量の平均値と除去率は平均値±SDで示す.

実験2におけるPII, GI, BOPの変化

PII, GI, BOPの臨床評価を表2に示す. 本研究期間中に膿瘍形成や急性炎症はみられなかった. PIIは術前が実験群で 0.33 ± 0.12 , 対照群は 0.33 ± 0.08 , 術後3か月では実験群で 0.36 ± 0.07 , 対照群は 0.35 ± 0.06 , 術後6か月では実験群で 0.35 ± 0.10 , 対照群は 0.35 ± 0.07 であった (表2). GIは術前が実験群で 1.32 ± 0.11 , 対照群は 1.41 ± 0.16 , 術後3か月では実験群で 0.34 ± 0.09 ,

対照群は 0.37 ± 0.09 , 術後6か月では実験群で 0.37 ± 0.10 , 対照群は 0.36 ± 0.08 であった. BOPは術前が実験群で $15.6 \pm 2.5\%$, 対照群は $14.3 \pm 2.3\%$, 術後3か月では実験群で $4.2 \pm 1.3\%$, 対照群は $3.8 \pm 1.2\%$, 術後6か月では実験群で $3.8 \pm 1.2\%$, 対照群は $3.6 \pm 1.0\%$ であった. 統計学的分析の結果, PIIは両群とも術前と術後3, 6か月を比較すると有意差は認められなかった. GIは両群とも術前と術後3, 6か月を比較すると有意差を認め

た ($p < 0.001$). BOP は両群とも術前と術後 3, 6 か月 6 か月の PII, GI, BOP は両群間に統計学的有意差を認めなかった。
を比較すると有意差を認めた ($p < 0.001$). 術前, 術後 3,

表 2 実験 2 における PII, GI, BOP の変化

	術前	術後3か月	P-Value	術後6か月	P-Value
PII					
EYL併用群	0.33±0.12	0.36±0.07	n.s	0.35±0.10	n.s
EYL未使用群	0.33±0.08	0.35±0.06	n.s	0.35±0.07	n.s
P-Value	n.s	n.s		n.s	
GI					
EYL併用群	1.32±0.11	0.34±0.09	*	0.37±0.10	*
EYL未使用群	1.41±0.16	0.37±0.09	*	0.36±0.08	*
P-Value	n.s	n.s		n.s	
BOP					
EYL併用群	15.6±2.5%	4.2±1.3%	*	3.8±1.2%	*
EYL未使用群	14.3±2.3%	3.8±1.2%	*	3.6±1.0%	*
P-Value	n.s	n.s		n.s	

PII, GI, BOP は平均値 ± SD で示す.

* 術前と比較した術後の統計的有意差 ($p < 0.001$)

n.s: 有意差なし

実験 2 における PD, CAL の変化

PD, CAL の臨床評価を表 3 に示す. PD は術前が実験群で 5.2 ± 0.7 mm, 対照群は 5.4 ± 0.6 mm, 術後 3 か月では実験群で 3.1 ± 0.5 mm, 対照群は 3.2 ± 0.5 mm, 術後 6 か月では実験群で 3.2 ± 0.5 mm, 対照群は 3.2 ± 0.5 mm であった. CAL は術前が実験群で 7.0 ± 0.9 mm, 対照群は $7.0 \pm$

1.0mm, 術後 3 か月では実験群で 4.5 ± 0.5 mm, 対照群は 4.6 ± 0.9 mm, 術後 6 か月では実験群で 4.5 ± 0.8 mm, 対照群は 4.6 ± 0.6 mm であった (表 3). 統計学的分析の結果, PD, CAL は術前と術後 3, 6 か月を比較すると有意差を認めた ($p < 0.001$). 術前, 術後 3, 6 か月の PD, CAL は両群間に統計学的有意差を認めなかった.

表 3 実験 2 における PD, CAL の変化

	術前	術後3か月	P-Value	術後6か月	P-Value
PD					
EYL併用群	5.2±0.7	3.1±0.5	*	3.2±0.5	*
EYL未使用群	5.4±0.6	3.2±0.5	*	3.2±0.5	*
P-Value	n.s	n.s		n.s	
CAL					
EYL併用群	7.0±0.9	4.5±0.5	*	4.5±0.8	*
EYL未使用群	7.0±1.0	4.6±0.9	*	4.6±0.6	*
P-Value	n.s	n.s		n.s	

PD, CAL は平均値 ± SD で示す.

* 術前と比較した術後の統計的有意差 ($p < 0.001$)

n.s: 有意差なし

考 察

LPS は, 動物細胞に対し種々の生物反応を示すことがよく知られている²¹⁻²⁶⁾. この活性は菌外膜にアンカーする部位であるリポド A とよばれる部位に起因すると考えられている²⁰⁾. そして, LPS は単球や好中球の

細胞膜上で CD14 や TLR4 と結合して免疫系シグナルを活性化し炎症性サイトカイン産生に関与する²⁵⁾. また, LPS は破骨細胞のアポトーシスを阻害することから歯周病の悪化に働くことが知られている³⁹⁾. 以前の報告から SRP を行うことによって露出セメント質に付着, 浸透している LPS を除去できることは知られてい

る^{29, 41, 42)}。過去には抜去歯にレーザー照射を行い超音波洗浄したのち、洗浄液中に溶出したLPS量を定量した報告はあるものの、フラップ手術中の露出セメント質のLPSを定量した報告はない⁴²⁾。そこで本研究はフラップ手術中に耳鼻科領域で検体採取時に使用されるダクロン樹脂で作られたスワブを用いて露出セメント質のLPSを採取し定量した。本方法により露出セメント質表面のLPS量を定量することができた。また歯肉弁剥離直後から水洗後、コットンペレットによる清拭後、SRP後およびEYL照射後のLPSの除去を確認した。しかし本臨床研究では、シャムオベ群を設定することが困難であったため詳細は不明だが、LPS量が5回の操作によって減少していくのは、単にスワブで擦過を繰り返していることも原因としては考えられる。光崎らは、抜去歯を用いた水洗による露出セメント質のLPSを定量した結果、1分間の水洗で $64 \pm 25\%$ 、5分間で $85 \pm 16\%$ 、1時間で $99 \pm 0.6\%$ の除去効果を報告している⁴²⁾。また、Mooreらの報告では抜去歯を20mlのバイロジェンフリーウォーターにて1分間洗浄することにより39%の弱く付着しているLPSが除去し、さらに1分間のブラッシングにより99%のLPSが除去することを報告している³²⁾。これらの報告から、LPSの露出セメント質への付着はごく表層であり、付着力は非常に弱いものと考えられる。本研究では50mlのミニマムシリンジで水洗することにより露出セメント質のLPS量を定量した結果、 $55.55 \pm 42.34\%$ の除去効果を確認したものの症例間で除去率の誤差が大きかった。MooreらはブラッシングによるLPSの除去効果を調べたが本研究ではフラップ手術中であるためコットンペレットを用いた。その結果、除去傾向を示したものの、水洗後とコットンペレットにて清拭後の間に統計学的有意差を認めなかった。これは、水洗とコットンペレットによる清拭は値にばらつきがあるためと考えられる。SRPによる感染セメント質の除去により、LPSが除去されることは過去に報告されている²⁸⁾。本研究の結果からSRP後は歯肉弁剥離直後と比較しLPS量は約91%の除去効果を確認した。その後のEYL照射後は約99%の除去効果を確認した。Olinsらは、生物活性を有するLPSの吸収波長のピークが $2.92 \mu\text{m}$ であると報告しており、EYLの波長($2.94 \mu\text{m}$)と極めて近似していることからLPSにEYL照射を行うことによりエネルギーを吸収し、化学的組成変化が生じLPSを失活させることを報告している⁴³⁾。このことから、EYL後に露出セメント質のLPSを除去できた因子としてエネルギー吸収が考えられる。本研究結果からLPS除去率はSRP後とEYL後を比較すると約8%減少しSRPとEYLを併用することで約99%のLPSを除去することができた。

Mooreらの抜去歯を用いた報告では1分間のブラッシングで99%LPSが除去できると報告があるものの、本研究の結果からフラップ手術中に99%LPSを除去するにはSRPとEYLを併用する必要が示唆された³²⁾。

フラップ手術時におけるEYLの応用は露出セメント質のデブライドメントと骨欠損部の不良肉芽組織の搔爬が主要な目的となっている。本研究はEYLによるLPSの除去が臨床パラメーターに及ぼす影響を調べるため、骨欠損部の不良肉芽組織の搔爬はグレーシーキュレットのみで行った。対照群と実験群ともに術前と比較し術後3か月、6か月後においてGI, BOP, PD, CALは統計的に有意な改善をもたらした。Gaspircらは、フラップ手術時にEYLを骨欠損および露出セメント質のデブライドメントに応用し、ウィドマン改良型フラップ手術と比較した結果、術後3年間は有意に高いプロービングデプスの減少とアタッチメントゲインの増加を示したことを報告した⁴⁴⁾。Sculeanらはフラップ手術にEYL併用群とフラップ手術にキュレット、超音波器具併用群と比較したところ臨床的評価に有意差を認めなかった⁴⁵⁾。実験2の結果からLPS量は実験群が平均 $0.01 \pm 0.26 \text{EU/mL}$ 、対照群が平均 $0.28 \pm 0.37 \text{EU/mL}$ であり、実験群は対照群と比較し露出セメント質の平均 0.27EU/mL の活性量が減少したもののGI, BOP, PD, CALは統計的有意差を認めなかった。血中LPSの正常値は濃度として 5pg/mL 、量として 0.035EU/mL とされている。本方法による歯肉弁剥離直後の露出セメント質表層の平均LPS量は $26.16 \pm 22.45 \text{EU/mL}$ で血中正常値と比較し高値を示した。過去のGoteinerらの報告から歯周病患者の血中LPSは中等度のアタッチメントロス群で $4.26 \pm 4.30 \text{EU/mL}$ 、高度のアタッチメントロス群で $5.18 \pm 6.23 \text{EU/mL}$ であり歯周病と血中LPSの相関を示した⁴⁶⁾。本研究からフラップ手術中の露出セメント質表層のLPS量を検出することができたため、血中LPSの供給源と考えられる。フラップ手術にEYL併用することは血中LPS量を減少させることで、歯周病の全身への影響に寄与するかについては今後、詳細な研究が必要である。

結 論

フラップ手術中にスワブを用いて露出セメント質表面のLPSを採取しLAL法により定量した結果、LPS量を検出することができた。またEYL照射により露出セメント質表面のLPS量は減少した。フラップ手術にEYL併用した群はフラップ手術群と比較し有意に露出セメント質のLPS量の減少を示したものの術後3か月、6か月後においてGI, BOP, PD, CALに有意差を認めなかった。

本論文に関して、開示すべき利益相反状態は無い。

文 献

- 1) Aoki A, Ando Y, Watanabe H and Ishikawa I. In vitro studies on laser scaling of subgingival calculus with an erbium:YAG laser. *J Periodontol.* 1994; 65: 1097-1106.
- 2) 渡辺 久, 青木 章, 安藤嘉則, 石川 烈, 鈴木基之, 小杉禎久, 星 政和, 長谷川絃司, 石川達也, 藤井弁次. Erbium:YAG レーザーの軟組織外科手術, スケーリングおよび窩洞形成への応用と臨床評価. *日歯保誌.* 1995 ; 38 : 1168-1179.
- 3) 高森一乗, 那須大介, 関 信幸, 西山未紗, 白川哲夫他. 小児軟組織疾患へのEr:YAG レーザーの応用と実態調査. *小児歯誌.* 2012 ; 50 : 393-397.
- 4) 長瀬隆之, 守矢佳世子. Er:YAG レーザーの舌小帯切除術への応用. *日レ歯誌.* 2014 ; 25 : 85-88.
- 5) Yoshino T, Yamamoto A and Ono Y: Innovative regeneration technology to solve peri-implantitis by Er:YAG laser based on the microbiologic diagnosis: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2015; 35: 67-73.
- 6) Schwarz F, Bieling K, Nuesry E, Sculean A and Becker J. Clinical and histological healing pattern of peri-implantitis lesions following non-surgical treatment with an Er:YAG laser. *Lasers Surg Med.* 2006; 38: 663-671.
- 7) Aoki A, Sasaki K, Watanabe H, and Ishikawa I. Lasers in non-surgical periodontal therapy. *Periodontol 2000.* 2004; 36: 59-97.
- 8) Cobb CM. Lasers in periodontics: a review of the literature. *J Periodontol.* 2006; 77: 545-564.
- 9) Ishikawa I, Aoki A, Takasaki AA, Mizutani K, Sasaki KM and Izumi Y. Application of lasers in periodontics: true innovation or myth? *Periodontol 2000.* 2009; 50: 90-126.
- 10) Kayano T, Ochiai S, Kiyono K, Yamamoto H, Nakajima S and Mochizuki T. Effects of Er:YAG laser irradiation on human extracted teeth. *Kokubyo Gakkai Zasshi.* 1989; 56: 381-392.
- 11) Seka W, Featherstone JDB, Fried D, Visuri SR and Walsh JT. Laser ablation of dental hard tissue: from explosive ablation to plasma-mediated ablation. *SPIE Int Soc Opt Eng.* 1996; 2672: 144-158.
- 12) Aoki A, Miura M, Akiyama F, Nakagawa N, Tanaka J, Oda S, Watanabe H and Ishikawa I. In vitro evaluation of Er:YAG laser scaling of subgingival calculus in comparison with ultrasonic scaling. *J Periodontal Res J.* 2000; 35: 266-277.
- 13) Aoki A, Ishikawa I, Yamada T, Otsuki M, Watanabe H, Tagami J, Ando Y and Yamamoto H. Comparison between Er:YAG laser and conventional technique for root caries treatment in vitro. *J Dent Res.* 1998; 77: 1404-1414.
- 14) Folwaczny M, Mehl A, Haffner C, Benz C and Hickel R. Root substance removal with Er:YAG laser radiation at different parameters using a new delivery system. *J Periodontol.* 2000; 71: 147-155.
- 15) Schwarz F, Sculean A, Berakdar M, Szathmari L, Georg T and Becker J. In vivo and in vitro effects of an Er:YAG laser, a GaAlAs diode laser, and scaling and root planing on periodontally diseased root surfaces: a comparative histologic study. *Lasers Surg Med.* 2003; 32: 359-366.
- 16) Ando Y, Aoki A, Watanabe H and Ishikawa I. Bactericidal effect of erbium YAG laser on periodontopathic bacteria. *Lasers Surg Med.* 1996; 19: 190-200.
- 17) Mizutani K, Aoki A, Takasaki AA, Kinoshita A, Hayashi C, Oda S and Ishikawa I. Periodontal tissue healing following flap surgery using an Er:YAG laser in dogs. *Lasers Surg Med.* 2006; 38: 314-324.
- 18) Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000.* 1997; 14: 12-32.
- 19) Sveen K. The capacity of lipopolysaccharides from bacteroides, fusobacterium and veillonella to produce skin inflammation and the local and generalized Shwartzman reaction in rabbits. *J Periodontal Res.* 1977; 12: 340-350.
- 20) Irving JT, Socransky SS, Tanner AC. Histological changes in experimental periodontal disease in rats monoinfected with gram-negative organisms. *J Periodontal Res.* 1978; 13: 326-332.
- 21) Raetz CR. Biochemistry of endotoxins. *Annu Rev Biochem.* 1990; 59: 129-170.
- 22) Izui S, Morrison DC, Curry B and Dixon FJ. Effect of lipid A-associated protein and lipid A on the expression of lipopolysaccharide activity. I. Immunological activity. *Immunology* 1980; 40: 473-482.
- 23) Koga T, Nishihara T, Fujiwara T, Nisizawa T, Okahashi N, Noguchi T and Hamada S. Biochemical and immunobiological properties of lipopolysaccharide (LPS) from *Bacteroides gingivalis* and comparison with LPS from *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 1985; 47: 638-647.
- 24) 中野昌康. 生物学的活性免疫系に対する作用, 岩永貞昭編, 内毒素—その構造と活性 第1版. 東京: 医歯薬出版; 1983: 259-288
- 25) Kiley P, Holt SC. Characterization of the lipopolysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4 and N27. *Infect Immun.* 1980; 30: 862-873.

- 26) Raetz CR, Ulevitch RJ, Wright SD and Sibley CH, Ding A and Nathan CF. Gram-negative endotoxin: an extraordinary lipid with profound effects on eukaryotic signal transduction. *FASEB J.* 1991; 5: 2652-2660.
- 27) Kikuchi T, Matsuguchi T, Tsuboi N, Mitani A, Tanaka S, Matsuoka M, Yamamoto G, Hishikawa T, Noguchi T and Yoshikai Y. Gene expression of osteoclast differentiation factor is induced by lipopolysaccharide in mouse osteoblasts via Toll-like receptors. *J Immunol.* 2001; 166: 3574-3579.
- 28) Aleo JJ, De Renzis FA, Farber PA and Varboncoeur AP. The presence and biologic activity of cementum-bound endotoxin. *J Periodontol.* 1974; 45: 672-675.
- 29) Aleo JJ, De Renzis FA and Farber PA. In vitro attachment of human gingival fibroblasts to root surfaces. *J Periodontol.* 46 : 639-645, 1975.
- 30) Hughes FJ, Smales FC. Immunohistochemical investigation of the presence and distribution of cementum-associated lipopolysaccharides in periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1986; 21: 660-667.
- 31) Hughes FJ, Auger DW and Smales FC. Investigation of the distribution of cementum-associated lipopolysaccharides in periodontal disease by scanning electron microscope immunohistochemistry. *J Periodontal Res.* 1988; 23: 100-106.
- 32) Moore J, Wilson M and Kieser JB: The distribution of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in relation to periodontally involved root surfaces. *J Clin Periodontol.* 1986; 13: 748-751.
- 33) 大竹 徹. 露出セメント質の生物学的為害性に関する研究. 日歯周誌. 1986; 28 : 992-1003.
- 34) Adriaens PA, Edwards CA, De Boever JA and Loesche WJ. Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth. *J Periodontol.* 1988; 59: 493-503.
- 35) 須田玲子. 病罹患歯の露出セメント質への *Porphyromonas gingivalis* LPS の浸透性について. 日歯周誌. 1992; 34: 104-113.
- 36) 小林一行, 山口博康, 長田玲子, 櫻庭栄一, 野村典生, 新井 高, 中村治郎. Er: YAG レーザー照射によるリポポリサッカライドの変化. 日歯周誌. 1998; 40: 79-87.
- 37) Yamaguchi H, Kobayashi K, Osada R, Sakuraba E, Nomura T, Arai T and Nakamura J. Effects of irradiation of an erbium:YAG laser on root surfaces. *J Periodontol.* 1997; 68: 1151-1155.
- 38) Suda K, Woo JT, Takami M, Sexton PM and Nagai K. Lipopolysaccharide supports survival and fusion of preosteoclasts independent of TNF-alpha, IL-1, and RANKL. *J Cell Physiol.* 2002; 190: 101-108.
- 39) Nishimine D, O'Leary TJ. Hand instrumentation versus ultrasonics in the removal of endotoxins from root surfaces. *J Periodontol.* 1979; 50: 345-349.
- 40) LOE H, SILNESS J. Periodontal Disease in Pregnancy I. Prevalence and Severity. *Acta Odontol Scand.* 1963; 21:533-551.
- 41) Jones WA, O'Leary TJ. The effectiveness of in vivo root planing in removing bacterial endotoxin from the roots of periodontally involved teeth. *J Periodontol.* 1978; 49: 337-342.
- 42) 光崎潤子, 田中裕子, 大竹 徹, 長谷川絃司. 水洗による露出歯根の内毒素除去効果. 日歯周誌. 1988; 30: 1055-1060.
- 43) Olins AL, Warner RC. Physicochemical studies on a lipopolysaccharide from the cell wall of *Azotobacter vinelandii*. *J Biol Chem.* 1967; 242: 4994-5001.
- 44) Gaspirc B, Skaleric U. Clinical evaluation of periodontal surgical treatment with an Er:YAG laser: 5-year results. *J Periodontol.* 2007; 78: 1864-1871.
- 45) Sculean A, Schwarz F, Berakdar M, Romanos GE, Arweiler NB and Becker J. Periodontal treatment with an Er:YAG laser compared to ultrasonic instrumentation: a pilot study. *J Periodontol.* 2004; 75: 966-973.
- 46) Goteiner D, Craig RG, Ashmen R, Janal MN, Eskin B and Lehrman N.: Endotoxin levels are associated with high-density lipoprotein, triglycerides, and troponin in patients with acute coronary syndrome and angina: possible contributions from periodontal sources. *J Periodontol.* 2008; 79: 2331-2339.