

論文内容の要旨

洗口液の *P. gingivalis* と *C. albicans* に対する増殖抑制効果の検討
(岩手医科大学歯学雑誌 第 48 巻、第 1 号、令和 5 年掲載予定)

さ さ き けい と
佐々木 溪斗

I. 研究目的

口腔内には常に 700 種以上の常在菌が存在しており、そのほとんどは特定されていない、しかし、加齢や免疫の低下により、常在菌の活動が優勢となり、炎症性疾患などが生じることは、すでに周知の事実である。

近年、日本では 4mm 以上のポケットを有する人口が 20 代で約 30%、50 代で約 50%、60 代で 60% とピークに達しており、それ以降は歯の喪失により、減少している¹⁾。歯周病は非プラーク性歯周疾患を除き、歯周病原性細菌によって引き起こされる感染性炎症性疾患であり、近年、生活習慣病として位置づけられ、食習慣、歯磨き習慣、喫煙、さらに糖尿病などの全身性疾患との関連性が示唆されている²⁾。

加齢や歯周病により、喪失歯が増加することで、可撤性補綴物の患者は増加する。義歯装着患者の内 87.7% の患者から真菌が定着しており、その 41.5% は、*Candida. albicans* (*C. albicans*) であることが報告されている。

加齢とともに口腔内の菌叢が変化し、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) を起因とした歯周病はもちろん、歯の喪失により、*C. albicans* による義歯性口内炎といった口腔内微生物性の炎症性疾患が多く報告されている。

これらに対する予防法としては機械的プラークコントロールと化学的プラークコントロールが挙げられるが、化学的プラークコントロールの一つである洗口法は患者が行える代表的なホームケアであり、利用される洗口液は数多く存在する。

本研究の目的は、*P. gingivalis* と *C. albicans* に対する洗口液の増殖予防効果を検討することであった。

II. 研究方法

本研究では洗口法を模した方法と義歯洗浄法を模した方法の 2 通りで、洗口液の有効性を調べた。

菌株は、*C. albicans* SC5314 株と *P. gingivalis* ATCC33277 株を用いた。

1. 洗口法を模した洗口液の有効性の検討

P. gingivalis と *C. albicans* の菌懸濁液を 1.0×10^7 cell/ml の濃度で準備し、4 種類の洗口液とコントロールとして PBS 溶液を用いて洗口法を模した方法で洗浄し、寒天培地に播種

し、菌の生存率を評価した。

2. 義歯洗浄を模した洗口液の有効性の検討

レジン製ブロック上で *P. gingivalis* と *C. albicans* を培養し、レジン製ブロックを洗口液にて洗浄、付着した細菌を回収し、寒天培地に播種し、細菌の生存率を評価した。

III. 研究成績

洗口法を模した方法では、セチルピリジニウム塩化物 (CPC : Cetylpyridinium Chloride) 含有の洗口液が他の洗口液と比較し、*P. gingivalis* と *C. albicans* の増殖を有意に抑制した (* $p < 0.05$)。他の洗口剤はコントロールと比較しても有意な差は認められなかった。

義歯洗浄を模した方法でも、CPC 含有の洗口液が他の洗口液と比較し、*P. gingivalis* と *C. albicans* の増殖を有意に抑制した (* $p < 0.05$)。他の洗口剤はコントロールと比較しても有意な差は認められなかった。

IV. 考察及び結論

本実験は、洗口法を模した方法、義歯洗浄を模した方法を行っているため、今回の結果から CPC 含有洗口液をホームケアに用いることで、口腔衛生環境の改善に有効であることが示唆された。

しかし、ベンゼトニウム塩化物やグルコン酸クロルヘキシジンは長期で使用することで効果が得られるとされており、本実験では、短期間・短時間の浸漬、振盪だったため、長時間・長期間での効果も検討すべきである。

本研究の結果から、洗口液中の CPC が菌の活動を大きく抑制することを示し、歯周炎や義歯性口内炎など、様々な口腔内微生物を原因とする疾患の予防に有効であることが示唆された。

論文審査担当者

主査 近藤 尚知 教授（補綴・インプラント学講座補綴・インプラント学分野）

副査 岸 光男 教授（口腔医学講座 予防歯科学分野）

副査 八重柏 隆 教授（歯科保存学講座 歯周療法学分野）

論文審査の結果の要旨

口腔内には常に700種以上の常在菌が存在しており、そのほとんどは特定されていない、しかし、加齢や免疫の低下により、常在菌の活動が優勢となり、炎症性疾患などが生じることは、すでに周知のことである。超高齢社会となった近年、日本では、4mm以上のポケットを有する人口が20代で約30%、50代で約50%、60代で60%とピークに達しており、それ以降は歯の喪失により、減少している。歯周病は非プラーク性歯周疾患を除き、歯周病原性細菌によって引き起こされる感染性炎症性疾患であり、近年、生活習慣病として位置づけられ、食習慣、歯磨き習慣、喫煙、さらに糖尿病などの全身性疾患との関連性が示唆されている。

加齢や歯周病により、喪失歯が増加することで、可撤性補綴物の患者は増加する。義歯装着患者の内87.7%の患者には真菌が定着しており、その41.5%は、*Candida albicans* (*C. albicans*) であることが報告されている。加齢とともに口腔内の菌叢が変化し、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) を起因とした歯周病はもちろん、歯の喪失により、*C. albicans* による義歯性口内炎といった口腔内微生物性の炎症性疾患が多く報告されている。これらに対する予防法としては機械的プラークコントロールと化学的プラークコントロールが挙げられるが、化学的プラークコントロールの一つである洗口法は患者が行える代表的なホームケアであり、利用される洗口液は数多く存在する。

本研究の目的は、*P. gingivalis* と *C. albicans* に対する洗口液の増殖予防効果を検討することであった。本研究では洗口法を模した方法と義歯洗浄法を模した方法の2通りで、洗口液の有効性を調べた。菌株は、*C. albicans* SC5314 株と *P. gingivalis* ATCC33277 株を用いた。

1. 洗口法を模した洗口液の有効性の検討：*P. gingivalis* と *C. albicans* の菌懸濁液を 1.0×10^7 cell/ml の濃度で準備し、4種類の洗口液とコントロールとしてPBS溶液を用いて洗口法を模した方法で洗浄し、寒天培地に播種し、菌の生存率を評価した。
2. 義歯洗浄を模した洗口液の有効性の検討：レジン製ブロック上で *P. gingivalis* と *C. albicans* を培養し、レジン製ブロックを洗口液にて洗浄、付着した細菌を回収し、寒天培地に播種し、細菌の生存率を評価した。

洗口法を模した方法では、セチルピリジニウム塩化物（CPC：Cetylpyridinium

Chloride) 含有の洗口液が他の洗口液と比較し, *P. gingivalis* と *C. albicans* の増殖を有意に抑制した (* $p < 0.05$). 他の洗口液はコントロールと比較しても有意な差は認められなかった. 義歯洗浄を模した方法でも, CPC 含有の洗口液が他の洗口液と比較し, *P. gingivalis* と *C. albicans* の増殖を有意に抑制した (* $p < 0.05$). 他の洗口液はコントロールと比較しても有意な差は認められなかった.

本実験は, 洗口法を模した方法, 義歯洗浄を模した方法を行っているため, 今回の結果から CPC 含有洗口液をホームケアに用いることで, 口腔衛生環境の改善に有効であることが示唆された.

しかし, ベンゼトニウム塩化物やグルコン酸クロルヘキシジンは長期で使用することで効果が得られるとされており, 本実験では, 短期間・短時間の浸漬, 振盪だったため, 長時間・長期間での効果も検討すべきである.

本研究の結果から, 洗口液中の CPC が菌の活動を大きく抑制することを示し, 歯周炎や義歯性口内炎など, 様々な口腔内微生物を原因とする疾患の予防に有効であることが示唆され, 超高齢化社会における口腔インプラント治療に大いに貢献するものと考えられ, 本研究の内容は学位論文に値すると評価した.

試験・試問結果の要旨

本研究の内容について, 本人からの説明を受け質問を行った. また, 今後の研究の展開並びに関連する基本事項についても試問を行い, 適切かつ十分な回答を得られたことから, 学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと認めた.

主査・副査から佐々木に対して, 多くの質問があり, 下記のような質疑応答が行われた.

問: 本実験において, イソジン, アズレン, リステリンを使用せず, Habit pro, ネオステリングリーン, Concool を選択した理由は何か?

答: ネオステリングリーンは有効成分としてベンゼトニウム塩化物を含有し, 現在, 日本では口腔内や中咽頭領域の消毒に最も広く使用されている消毒薬の一つであり臨床で広く用いられ保険適応となっている. また, Concool は有効成分としてグルコン酸クロルヘキシジン含有し歯垢除去や歯肉炎の予防として用いられるゴールドスタンダードであり, 外科手術

前の消毒として広く用いられている。Habit proはセチルピリジニウム塩化物を含有し、歯科医院専売となっており、近年広く使用されている。これらの理由からこの三つを選択した。また、本実験では、アルコール非含有の洗口液の効果を調べる目的もあったためアルコール含有であるリステリンは、選択肢から排除された。

問：洗口法の実験系では、菌に直接洗口液を作用させているため、バイオフィームと比較して耐性が弱い、他の実験系を考えなかったのか？

答：実際の臨床的なモデルで考えるならば、疑似的な歯質を準備し、そのマテリアル上で前培養し、バイオフィームを形成することで口腔内を再現し、洗口液の効果を比較する方法が望ましいが、本実験の目的はあくまで洗口液が *P. gingivalis* と *C. albicans* に対して増殖抑制効果を持つかどうかを確認するためであったため、臨床よりも直接的に微生物に作用する方法を用いました。

問：レジンブロックの実験系では、セチルピリジニウム塩化物は付着した細菌を殺菌したのか？

答：レジン製ブロックを用いた実験系では、レジン製ブロック上に菌を付着させている。本実験系のみ結果では、セチルピリジニウム塩化物が微生物の付着を断ち切り、洗い流した可能性があるため、必ずしも殺菌効果があるとは断言できない。しかし、洗口液の実験系では直接的に微生物に対して作用しているため、殺菌作用により、菌増殖抑制効果を示した可能性が高いと考えている。

問：リステリンなど他の洗口液の効果は？

答：我々の過去の研究では、類似した実験系でアルコール含有洗口液であるリステリンが義歯安定剤に付着した口腔内細菌に対して強い増殖抑制効果を示したと報告されている。また予備研究にて、中水準消毒液であるポピドンヨードでも同様の実験を行ったが、セチルピリジニウム塩化物と同等の菌増殖抑制効果を示した。また、ネオステリングリーン原液で同様の実験を行った際、ポピドンヨード、セチルピリジニウム塩化物ほどではないが、菌増殖抑制効果を示した。しかし、高濃度のベンゼトニウム塩化物は、歯肉線維芽細胞の増殖抑制効果が生じると報告されているため、臨床応用は難しいと考えている。

問：真菌の形態変化した状態での研究を行う予定はあるのか？今回は、義歯性口内炎の予防

を目標としているのか、治療的効果も狙っているのか？

答：本実験では、レジン製ブロック上に付着した *C. albicans* が、実際の義歯性口内炎の発症した義歯に付着した *C. albicans* の形態と同様かは確認していないため、今後の研究課題としたい。義歯表面に付着した菌は、基本的には機械的清掃と義歯洗浄剤にて洗浄することで予防する。ただ、今回の結果からセチルピリジニウム塩化物含有洗口液は口腔内に直接応用できるため、義歯性口内炎の予防だけでなく、治療にも有効であると考えている。また、セチルピリジニウム塩化物を義歯洗浄剤として利用することも可能であることが示唆された。

問：今回得られた、ネオステリングリートの結果から、効果はどう解釈すればいいか？

答：本実験では、濃度に関係なくネオステリングリートは増殖抑制効果を示さなかったため、歯周病や義歯性口内炎等への予防効果は弱いと考えている。しかし、本実験では、30秒間の振盪・浸漬のみであり、他の研究では、30日間と長期的に用いることでBOP、Gi、PPD、細菌の生存率を減少させたとの報告もあったため、日常的なセルフケアとしては、効果を認められる可能性はあると考えている。しかし、エビデンスレベルが高いとは言えないため、長期間での実験系を今後の検討課題としたい。

問：この研究の新規性は？

答：現在、歯磨剤や洗口液には、歯垢抑制効果や歯周病予防効果を期待する有効成分が配合されているが、洗口液の効果は臨床的にエビデンスレベルが低いまたは不明な点が多いため、それらを明らかとした。

問：*P. gingivalis* と *C. albicans* の二つにした理由は？

答：日本人成人の半分以上が歯周病に罹患しており、年齢と共に喪失歯が増加する。近年、8020運動等高齢者の残存歯数は増加しているものの、可撤性義歯装着患者も増加している。そのため、歯周炎の原因菌である *P. gingivalis* や義歯性口内炎の原因菌である *C. albicans* の2つの口腔内微生物が口腔内で共存する環境が多くなると考えたため選択した。