

# CPCを含有する洗口液の 口腔内細菌に対する増殖抑制効果

Effect of CPC containing mouthwash on reducing oral bacteria

高藤恭子 Kyoko Takafuji / 福德暁宏 Akihiro Fukutoku

歯科医師・岩手医科大学歯学部補綴・インプラント学講座 Department of Prosthodontics and Oral Implantology, School of Dentistry, Iwate Medical University

岩手県盛岡市内丸19-1

## 抄録

目的：歯周炎ならびにインプラント周囲炎の予防は患者のセルフケアに大きく依存している。本研究の目的は、口腔内細菌に対する洗口液の増殖抑制効果を評価することである。

方法：インプラント治療のメンテナンス中の患者30名を対象とし、細菌数の計測と各種細菌の定量化を行った。

結果：洗口液の1週間の継続使用により、口腔内細菌数が有意に減少した。定量的PCR法により、インプラント周囲炎に関連する細菌6菌種の細菌数の減少を認め、そのうち2菌種に統計学的有意な差を認めた。

結論：本研究において、洗口液の連続使用が口腔内細菌数を減少させ、口腔内細菌の増殖を抑制する効果があることが示唆された。

**キーワード：**インプラント周囲炎、洗口液、メンテナンス、口腔内細菌、セルフケア

## Abstract

Purpose : Peri-implantitis is one of the biological complications that affects the survival rate of implant bodies. However, there are no effective treatment for it and prevention of peri-implantitis depends on patient self-care. The purpose of this study was to measure the number of oral bacteria before and after the use of mouth wash and to evaluate the growth inhibitory effect of mouthwash on oral bacteria.

Methods : The subjects were 30 patients undergoing implant maintenance. The number of bacteria was measured with a measuring device. At the same time, a paper point was inserted into the gingival sulcus of a natural tooth to collect a sample, and various bacteria were quantified by a quantitative PCR method. After that, patients used mouth wash for one week, and then bacteria were collected. Each data was statistically analyzed ( $p < .05$ ).

Results : Continued use of mouth wash for one week significantly reduced the number of bacteria in the oral cavity. Quantitative PCR showed the number of 6 bacterial species decreased, and of which 2 were statistically significant.

Conclusions: In this study, it was suggested that continuous use of mouth wash has the effect of reducing the number of oral bacteria and suppressing the growth of oral bacteria.

**Keywords:** peri-implantitis, mouth wash, maintenance, oral bacteria, self-care

## 緒言

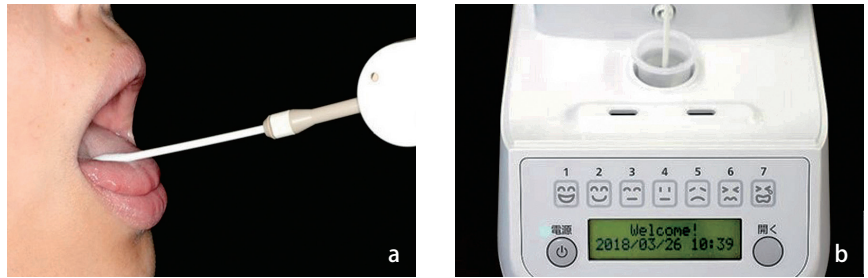
超高齢社会となつてすでに久しいわが国では、8020の達成率が50%を超え、近年は歯の欠損に対する治療から、残存する天然歯ならびに修復した歯をいかに維持していくかが、より重要な課題となりつつある。クラウンブリッジ・可撤性義歯と同様に、欠損補綴のひとつの選択肢となつたインプラントについても併発疾患に対する

予防が重要であることは同様である。

口腔インプラント治療は高い残存率を有し、長期にわたつて口腔内で機能する補綴治療として広く普及している<sup>1-3</sup>。長期経過症例において、インプラント周囲炎に代表される生物学的併発症は、インプラント残存率にもっとも大きな影響を与える一因である<sup>4</sup>。Papaspyridakosらは、生物学的併発症の発症率は5年経過時に10.5%、10年経過時に21.1%と報告しており<sup>5</sup>、高い頻度で発症す

図 1a 舌背からの検体採取.

図 1b 細菌カウンタによる細菌数の測定.



ることが明らかとなっている。インプラント周囲炎の治療法として、レーザー照射<sup>6</sup>や外科的手技<sup>7,8</sup>などの方法が報告されている。しかしながら、どの方法もいまだ確立されておらず、現状では予防することがもっとも重要である。

不十分なプラークコントロールは、歯周炎ならびにインプラント周囲炎のリスクファクターであるため<sup>9</sup>、その予防には歯科医院でのプロフェッショナルケアと患者のセルフケアが必要不可欠である。平成28年度の歯科疾患実態調査によると、わが国のインプラント治療患者の中で、65歳以上の高齢者の割合は約68%を占めている<sup>10</sup>。今後、高齢者人口がさらに増加すると、メンテナンスのために通院できず、セルフケア自体も困難となる患者が増加すると推測される。

近年、セルフケアの一助として、洗口液の効果が注目されている。洗口液は使用方法が簡便であるため、ブラッシングなどの機械的清掃と併用して容易に導入できるという利点がある<sup>11,12</sup>。しかしながら、市販の洗口液の効果についてはエビデンスレベルの高い報告が少なく、不明な点が多い。また、洗口液の継続使用による影響等の問題点についても客観的な報告はない。

本研究の目的は、セチルピリジニウム塩化物(CPC)含有洗口液の、歯周炎ならびにインプラント周囲炎の原因となり得る関連細菌に対する増殖抑制効果を患者の口腔内で評価することである。さらに、本洗口液の歯周炎・インプラント周囲炎の予防効果についても検証を試みる。

## 1. 対象および方法

### 1) 対象

岩手医科大学附属歯科医療センター口腔インプラント外来においてインプラント治療を受け、メンテナンスに通院中の患者30名(男性18名, 女性12名, 平均年齢67.3歳)を対象とした。なお、被検者数は、過去の報告と統

計の専門家の意見を参考に決定した<sup>13-15</sup>。インプラント体の本数は上下顎で1~8本で、すべてのインプラント体周囲に異常所見を認めず、残存歯のポケット深さは3mm以内で歯周組織も健康かつ良好に経過していることを採択基準とした。すべての対象者は、メンテナンス期間中における口腔清掃状態は良好(PCR15%程度)で、喫煙歴がないことを確認した。また、糖尿病の既往がある患者は、測定データに影響を与える可能性があるため除外した。

なお、本研究は岩手医科大学附属病院特定臨床研究倫理審査委員会承認のもと実施し、患者のインフォームドコンセントを得て行った(倫理審査委員会番号12000018承認承認番号01271号 実施計画番号jRCTs021180046号)。

### 2) 洗口方法と検体採取のタイミング

洗口液はモンダミン・ハビットプロ(薬効成分としてCPC 0.05%, グリチルリチン酸ジカリウム0.015%, トラネキサム酸0.05%含有:アース製薬, 東京, 日本)を使用し、約20mlを口腔内に含み30秒間洗口を行い、洗口の前後における細菌数の変化を計測した。①洗口前, ②洗口液での30秒間の洗口直後, ③洗口20分後, のタイミングで検体を採取した。その後、被験者は日常の機械的清掃(ブラッシング)に加えて、洗口液を1週間(4回/日:毎食後と就寝前)継続使用し、1週間後に同様のタイミング(④洗口前, ⑤洗口直後, ⑥洗口20分後)で検体を採取した。

なお、被検者には、今までどおりの日常生活と口腔清掃に加え、毎食後と就寝前に洗口を指示した。したがって、通常のブラッシングを行った状態で来院している。

### 3) 舌背からの検体採取と計測

滅菌綿棒と採取器具(定圧検体採取器具N-DP02, パナソニック, 大阪, 日本)を使用して、7名のオペレーターが、舌背中央部から一定の圧力(20g ± 5g)で口腔粘液を採取した(図1a)。細菌測定機器(口腔内細菌カウンタ

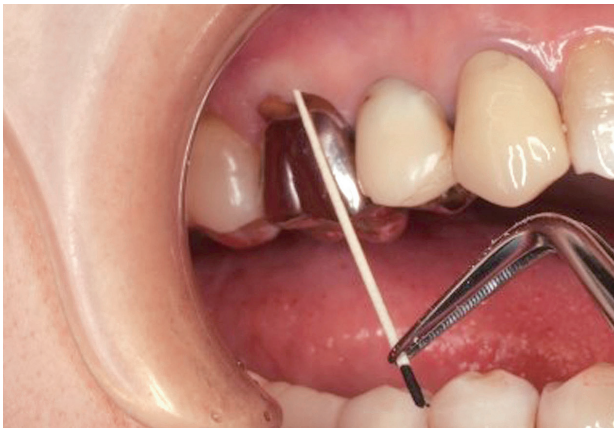


図2 歯肉溝からの検体採取。

NP-BCM01-A, パナソニック, 大阪, 日本)を用いて, 綿棒に吸収付着した検体内の細菌数を測定した(図1b)。

#### 4) 歯周病関連細菌の同定と定量

上顎右側第一大臼歯(喪失している場合は上顎左側第一大臼歯)の歯肉溝内に①洗口前と④1週間使用後の洗口前のタイミングで4本のペーパーポイントを挿入して約30秒間保持し, 歯肉溝内滲出液を採取した(図2)。検体中に含まれる歯周病関連細菌を, ペリオアナリイズ検査キット(デンタリード, 大阪, 日本)を使用して定量的PCR法によって検出し, それぞれの菌種を定量した。

#### 5) 統計解析

得られた各データから, 洗口液による洗口前後での細菌数を比較し, その効果を検討した。統計解析は, 統計解析ソフト(SPSS Statistics 23, IBM, New York, USA)を使用して, Steel-Dwass法の多重比較検定およびWilcoxonの符号付順位検定を行った( $p < 0.05$ )。

## 2. 結果

研究期間中における被検者の脱落はなかった。

舌背から採取した検体中の口腔内細菌数は, 表1に示すように初回来院時の①洗口前がもっとも多く, 洗口後は減少した。そして, 1週間後の2回来院時の③洗口直後がもっとも少ない値を示した。洗口液を1週間連続して使用したことにより, 初回来院時と比較して2回来院時の口腔内細菌数は有意に減少した(図3)。同一来

表1 舌背上の口腔内細菌数の平均値。

①洗口前	78.1
②洗口直後	40.8
③洗口20分後	47.8
④洗口前(1週間使用後)	21.2
⑤洗口直後(1週間使用後)	12.1
⑥洗口20分後(1週間使用後)	14.0

( $\times 10^5$  CFU/mL)

院日における比較では, 洗口前後で口腔内細菌数は減少傾向を示したが, 統計学的有意な差は認めなかった。

歯肉溝内から採取した検体を定量的PCR法で定量化した結果, 6種の歯周病原性細菌(*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*)を検出した。洗口液を1週間連続使用すると, 検出したすべての菌種の数が増加する傾向を示し, そのうち2菌種(*T. denticola*, *P. micra*)に, 統計学的有意な差を認めた(図4)。

## 3. 考察

本研究において使用した洗口液は, 薬剤のように口腔衛生状態の改善に顕著な効果を示すものではなく, 補助的な衛生用品である。すなわち結果の解析においては, 軽微な変化までを観察する必要があると考え, 口腔衛生状態が比較的安定している, インプラント治療を完了してメンテナンスに移行している患者を被検者とした<sup>16</sup>。

口腔内細菌カウンタによる舌背からの検体の解析結果から, 洗口液を1週間連続使用することによって, 口腔内細菌数が約1/4に減少することが明らかとなった。本研究で使用した口腔内細菌カウンタは, 従来の培養法との相関係数(R): 0.85以上と高い相関を示しているため, 解析時間の短縮と被検者のストレス軽減の観点から採用した<sup>17</sup>。また, 本研究に用いた洗口液ハビットプロには, 殺菌効果とプラーク付着抑制効果のあるCPCが含まれている。CPCは細菌の細胞膜を破壊することで殺菌作用を示し, 元来はトローチ剤として使用され, 口腔

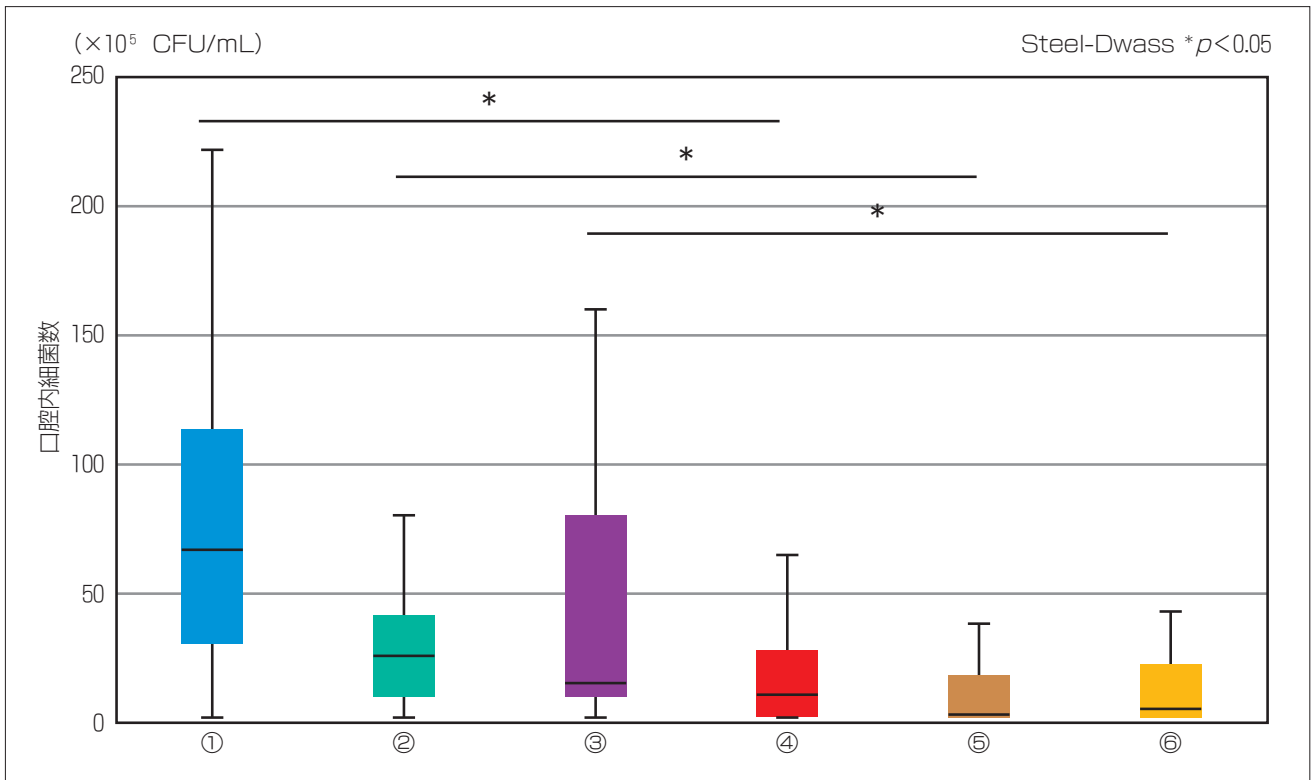


図3 舌背上の口腔内細菌数の推移。①洗口前，②洗口直後，③洗口20分後，1週間連続使用後の④洗口前，⑤洗口直後，⑥洗口20分後。

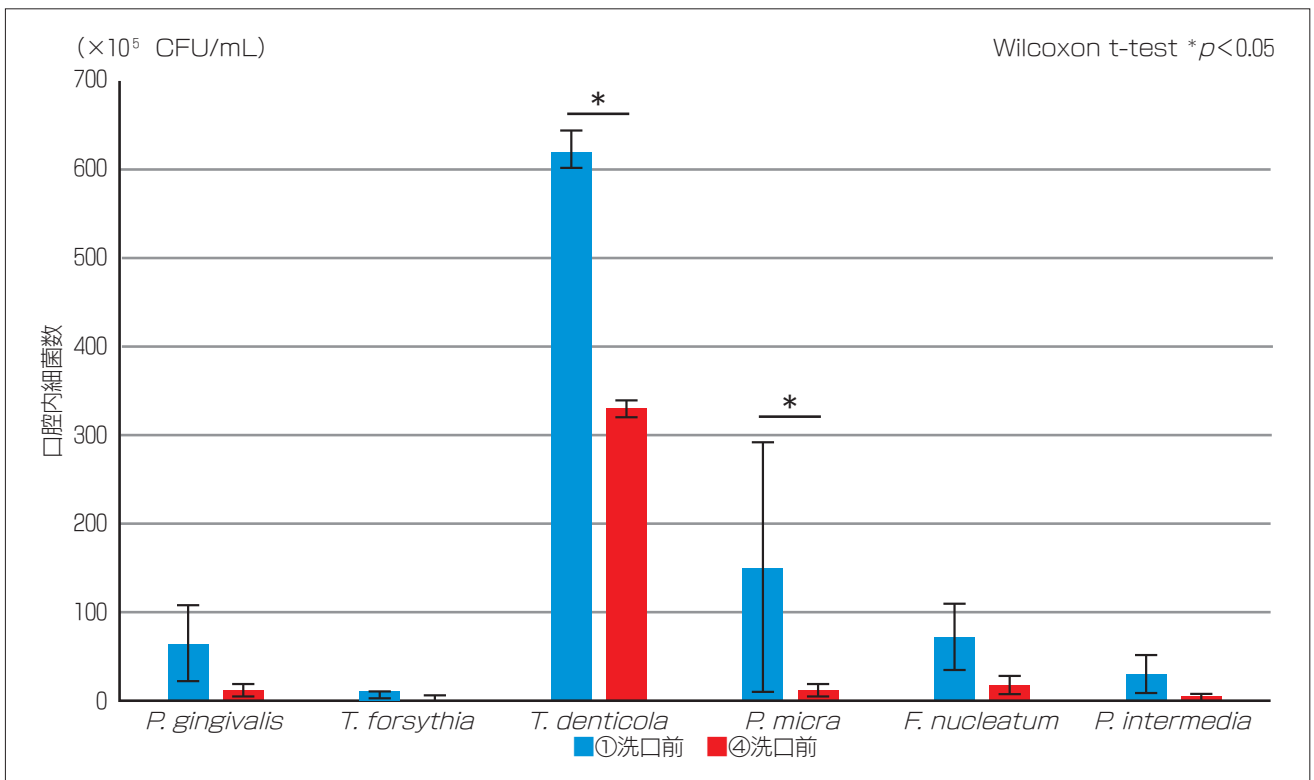


図4 歯肉溝内の口腔内細菌の推移。①洗口前，1週間連続使用後の④洗口前。

や咽頭の細菌に対して有効であることが報告されている<sup>18,19</sup>。現在、日本国内で販売されている洗口液には、CPCの他にグルコン酸クロルヘキシジン(CHX)やエッセンシャルオイル(EO)が殺菌成分として含有されている。Fridusら<sup>20</sup>のシステマティックレビューでは、CPCはCHXやEOと同様に、歯肉炎に有効であることが報告されている。

上記の報告と本研究の結果から、CPC含有の洗口液を連続使用することによって、口腔内細菌数を減少させることが可能であることが明らかとなり、歯周組織に対する細菌感染のリスクを減じる効果があるものと推察できる。一方で、同日内における検査結果から、洗口後の細菌数の値に有意な減少は認めなかった。洗口による洗浄作用によって細菌数が洗口直後に一時的に減少したが、洗口20分後には唾液等によるウォッシュアウト効果によって殺菌成分が希薄化され、細菌数のリバウンドがあったものとする。したがって、洗口液の単回使用では、口腔内細菌に対する増殖抑制効果は必ずしも高くないと示唆された。

一方で、洗口液は深い歯周ポケットには到達しづらく、殺菌効果が低くなることが報告されている<sup>21</sup>。本研究では、洗口液の細菌増殖抑制効果を評価するために、ポケット深さが3mm以内の天然歯を対象とした。また、インプラント周囲ポケットの深さは、埋入深度や粘膜の厚みに依存して深くなるため、同様の理由でインプラント周囲ポケットから検体を採取しなかった。深いポケットを形成した歯やインプラント部位への洗口液の局所的な効果については、異なるアプローチによる検証が必要である。

定量的PCR法の結果から、歯周病原性細菌であるred complexの3菌種(*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*)とorange complex(*P. micra*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*)の3菌種が検出された。洗口液の連続使用により、6菌種すべての細菌数が減少し、そのうち2菌種に統計学的有意

な差を認めた。red complexやorange complexに属する細菌は、歯周病に関与する重要な細菌として報告されている<sup>22,23</sup>。そのため、本研究で使用した洗口液は、歯周病の予防に寄与することが示唆された。

また、インプラント周囲炎に罹患した部位にはred complexの3菌種の菌数が多いという報告があり<sup>24,25</sup>、インプラント周囲炎においても歯周病原性細菌の関連が示されている。そのため、本研究で用いた洗口液は、歯周病原性細菌の増殖を抑制したことから、インプラント周囲炎に対しても一定の予防効果を有する可能性がある。しかしながら、インプラント周囲炎の罹患した組織から、歯周炎では検出されない菌種が検出されるという報告もあり<sup>26,27</sup>、両者の原因となる細菌叢が完全には一致しないことが明らかとなっている。さらに近年では、インプラント周囲炎の細菌叢は多様性が高く、それら多様な細菌が相互に影響を及ぼしながら細菌叢を構成していることが示されている<sup>28-30</sup>。したがって、洗口液のインプラント周囲炎に対する予防効果について、本研究のPCR法による特定菌種のみで評価することはできず、今後より詳細な検証を必要とするものとする。

## 結論

CPC含有の洗口液を1週間連続使用することで、口腔内細菌の増殖を抑制できることが明らかとなり、歯肉炎や歯周炎、さらにはインプラント周囲粘膜炎、インプラント周囲炎等の細菌感染を主な要因とする疾患の発生するリスクを軽減する可能性があることが示唆された。

本論文に関して、著者の開示すべき利益相反状態は下記の通りである。

- ・該当者氏名：高藤恭子，福徳暁宏
- ・該当事項の概要：研究費
- ・企業名：アース製薬

## 参考文献

- Urban IA, Monje A, Lozada JL, Wang HL. Long-term Evaluation of Peri-implant Bone Level after Reconstruction of Severely Atrophic Edentulous Maxilla via Vertical and Horizontal Guided Bone Regeneration in Combination with Sinus Augmentation: A Case Series with 1 to 15 Years of Loading. *Clin Implant Dent Relat Res* 2017;19(1):46-55.
- Tey VHS, Phillips R, Tan K. Five-year retrospective study on success, survival and incidence of complications of single crowns supported by dental implants. *Clin Oral Implants Res* 2017;28(5):620-625.
- Werbelow L, Weiss M, Schramm A. Long-term follow-up of full-arch immediate implant-supported restorations in edentulous jaws: a clinical study. *Int J Implant Dent* 2020; 6(1):34.
- Jung RE, Pjetursson BE, Glauser R, Zembic A, Zwahlen M, Lang NP. A systematic review of the 5-year survival and complication rates of implant-supported single crowns. *Clin Oral Implants Res* 2008;19(2):119-130.
- Papaspyridakos P, Chen CJ, Chuang SK, Weber HP, Gallucci GO. A systematic review of biologic and technical complications with fixed implant rehabilitations for edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2012;27(1):102-110.
- Lin GH, Suárez López Del Amo F, Wang HL. Laser therapy for treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: An American Academy of Periodontology best evidence review. *J Periodontol* 2018;89(7):766-782.
- Rocuzzo A, Stähli A, Monje A, Sculean A, Salvi GE. Peri-Implantitis: A Clinical Update on Prevalence and Surgical Treatment Outcomes. *J Clin Med* 2021;10(5):1107.
- Ramanauskaitė A, Fretwurst T, Schwarz F. Efficacy of alternative or adjunctive measures to conventional non-surgical and surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Implant Dent* 2021; 7(1):112.
- Mameno T, Wada M, Onodera Y, Fujita D, Sato H, Ikebe K. Longitudinal study on risk indicators for peri-implantitis using survival-time analysis. *J Prosthodont Res* 2019;63(2):216-220.
- 厚生労働省. 歯科疾患実態調査. 厚生労働省. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/list/62-17b.html>. (2022年1月18日アクセス)
- Hua F, Xie H, Worthington HV, Furness S, Zhang Q, Li C. Oral hygiene care for critically ill patients to prevent ventilator-associated pneumonia. *Cochrane Database Syst Rev* 2016;10(10):CD008367.
- James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 3(3):CD008676.
- Khanjani Pour-Fard-Pachekenari A, Rahmani A, Ghahramanian A, Asghari Jafarabadi M, Onyeka TC, et al. The effect of an oral care protocol and honey mouthwash on mucositis in acute myeloid leukemia patients undergoing chemotherapy: a single-blind clinical trial. *Clin Oral Investig* 2019;23(4):1811-1821.
- Haydari M, Bardakci AG, Koldslund OC, Aass AM, Sandvik L, Preus HR. Comparing the effect of 0.06%, 0.12% and 0.2% Chlorhexidine on plaque, bleeding and side effects in an experimental gingivitis model: a parallel group, double masked randomized clinical trial. *BMC Oral Health* 2017;17(1):118.
- Rashed HT. Evaluation of the effect of hydrogen peroxide as a mouthwash in comparison with chlorhexidine in chronic periodontitis patients: A clinical study. *J Int Soc Prev Community Dent* 2016; 6(3):206-212.
- 木下四郎, 渡辺久, 米良豊, 北村滋, 小林誠, 長田豊, ほか. メンテナンスに於ける好ましいブラークコントロールの程度について. *日歯周誌* 1981;23(3): 509-517.
- Suehiro J, Yatsunami R, Hamada R, Hara M. Quantitative estimation of biological cell concentration suspended in aqueous medium by using dielectrophoretic impedance measurement method. *J Phys D* 1999;32:2814-2820.
- 古市暢夫, 及川征一, 若山徹, 中島正臣, 八木沢幹夫, 山本和久. 咽頭感染症に対するスプロールトローチの臨床的効果および細菌変動の検討. *薬理と治療* 1976; 4(7): 1874-1881.
- 牛嶋申太郎, 島田早苗, 増野肇, 岩井芳郎. 咽頭・口腔疾患に対する口内錠の治療効果検討—スプロールトローチ使用例—. *基礎と臨床* 1978;12(13):3678-3692.
- Van der Weijden FA, Van der Sluijs E, Ciancio SG, Slot DE. Can Chemical Mouthwash Agents Achieve Plaque/Gingivitis Control? *Dent Clin North Am* 2015;59(4):799-829.
- Moran JM. Home-use oral hygiene products: mouthrinses. *Periodontol* 2000 2008;48:42-53.
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25(2):134-144.
- Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000 2002;28:12-55.
- Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clin Oral Implants Res* 2008;19(10):975-982.
- Máximo MB, de Mendonça AC, Renata Santos V, Figueiredo LC, Feres M, Duarte PM. Short-term clinical and microbiological evaluations of peri-implant diseases before and after mechanical anti-infective therapies. *Clin Oral Implants Res* 2009;20(1):99-108.
- Botero JE, González AM, Mercado RA, Olave G, Contreras A. Subgingival microbiota in peri-implant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients. *J Periodontol* 2005;76(9):1490-1495.
- Yu XL, Chan Y, Zhuang L, Lai HC, Lang NP, Keung Leung W, et al. Intra-oral single-site comparisons of periodontal and peri-implant microbiota in health and disease. *Clin Oral Implants Res* 2019;30(8):760-776.
- Zheng H, Xu L, Wang Z, Li L, Zhang J, Zhang Q, et al. Subgingival microbiome in patients with healthy and ailing dental implants. *Sci Rep* 2015; 5:10948.
- Maruyama N, Maruyama F, Takeuchi Y, Aikawa C, Izumi Y, Nakagawa I. Intraindividual variation in core microbiota in peri-implantitis and periodontitis. *Sci Rep* 2014; 4:6602.
- Shiba T, Watanabe T, Kachi H, Koyanagi T, Maruyama N, Murase K, et al. Distinct interacting core taxa in co-occurrence networks enable discrimination of polymicrobial oral diseases with similar symptoms. *Sci Rep* 2016; 6:30997.