

論文内容の要旨

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
(日本臨床歯科学会雑誌 第 9 巻、第 1 号掲載予定)

たかふじ きょうこ
高藤 恭子

I. 研究目的

口腔内細菌に対する CPC 含有の洗口液の増殖抑制効果を評価することである。

II. 研究方法

1. 対象者はインプラントメンテナンス中の患者 30 名とした。
2. ①洗口前, ②洗口液での洗口直後, ③洗口 20 分後に, 舌背上のプラークを綿棒で採取し, 測定機器で細菌数を計測した。また, 同時に上顎第 1 大臼歯の歯肉溝内にペーパーポイントを挿入して検体を採取し, 定量的 PCR 法で各種細菌を定量化した。その後, 洗口液を 1 週間 (4 回/日) 継続して使用し, 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) で細菌を採取した。
3. 得られた各データを Steel-Dwass 法の多重比較, Mann-Whitney U test で統計解析した ($p < 0.05$)。

III. 研究成績

1. 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。
2. 同日中の計測では, 洗口前よりも, 洗口直後と洗口 20 分後に細菌数が減少したが, 有意な差を認めなかった。
3. 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。

IV. 考察及び結論

1. 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。
2. 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。

3. 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ことから、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。
4. 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ことから、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。
5. 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ることから、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、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ことから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考えられる。
6. 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、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。

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 野田 守 教授（歯科保存学講座 う蝕治療学分野）

論文審査の結果の要旨

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。歯周炎ならびにインプラント周囲炎は生物学的併発症の一つであるが、有効な治療法は確立されておらず、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、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している。

本研究においてはインプラントメンテナンス中の患者30名を対象とし、洗口の前後における細菌数の変化を計測した。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、残存歯のポケットデプスは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ている。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、細菌数の計測と各種細菌の定量化を行った。CPCは細菌の細胞膜を破壊することで、殺菌作用を示し、口腔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。CPC含有洗口液の1週間の継続使用により、口腔内細菌数が有意に減少することがあきらかとなった。また定量的PCR法により、2菌種に統計学的有意な減少を認めた。上記の解析結果から、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、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。

本研究成果は、学術的に良質な研究業績であり、高く評価できる。学位審査におけるプレゼンテーションでは、目的、方法、結果、考察に至るまでの過程を簡潔かつ論理的に解説した。質疑応答に関しても、適切な受け答えをしており、当該分野の知識を十分に有している

と考えられる。

上記のように、本研究は口腔インプラント学のみならず関連領域の今後の発展に大いに貢献するものと考えられ、本論文は臨床的意義の非常に大きいものであり、学位論文に値すると評価した。

試験・試問結果の要旨

はじめに本論文の目的、概要について説明がなされた。次いで研究方法、結果ならびにその考察と臨床的意義、今後の研究展開について試問した結果、いずれも適切かつ明瞭な回答が得られた。また、今後の研究に対しても意欲的であり、学位に値する学識と研究能力を備えているものと判定した。

また、主査・副査から多くの質問があり、下記のような質疑応答が行われた。

【岸副査】

医薬品医療機器等法上の特定臨床研究なので、倫理審査の段階でかなり厳密な審査をされていると考えられ、研究方法の信頼性は高い。1つだけ、その対象者のリクルートで、残存歯数は交絡因子になっていたかまたは考慮したかどうか。

【高藤回答】

インプラントの埋入本数が1から8本と決めていたので、それ以外は天然歯ということになる。ブリッジが装着されている場合もあるが、そこまでは検討していない。

【岸副査】

インプラントを支台としたデンチャーなどはなく、インプラント以外は天然歯ということで理解した。図3の舌サンプルの資料のデータは、分散分析をされているが、分布は正規的であったか。

【高藤回答】

正規ではない。

【岸副査】

正規ではないということは、解析に用いたSteel-Dwass法は、ノンパラメトリックの解析方法か。

【高藤回答】

その通りである。

【岸副査】

多重比較検定のWilcoxonは図4であるが、定量精度が図3と図4だと大きく違うと思われ

る。歯周病原性細菌に関しては PCR 法で、舌サンプルに関しては細菌カウンターで行うことで、やっぱり感度と精度がかなり違っているように思うが、そのあたりの整合性についてはどのように評価されているのか

【高藤回答】

感度の違いの評価までは行っていない。あくまでも舌背の方は総数を見ているもので、菌種に関しては PCR 法で評価している。

【岸副査】

CPC はバクテリアに対して非特異的とイントロのところでも述べていたが、長期間洗口することに関してのその報告があまりない。毎日続けることによって常在菌が変化すると予想される点についてはどう考えるか。

【高藤回答】

最初は菌交代現象のようなことが起こりえるのかなというところも考えながら始めてはいたが、1 週間では症状としての変化は認められなかった。もし長期的に見た場合、可能性としては否定できない。

【近藤主査】

最後の質問の長期の観察に対しては、特定臨床研究のプロトコールに入れてないので、それを実施するという事は難しいのではないかと。

【野田副査】

長期使用における菌交代現象については、岸副査が言ったように口腔内細菌は常在菌として必要だが、カンジダなどが増えなければ、議論ができると思う。4 週間とか 8 週間で 1 日 1 回就寝前の洗口するプログラムで検討してみてはどうか。

【近藤副査】

倫理委員会の申請の状態を考えながら進めると良いのではないかと。

【野田副査】

インプラント周囲炎の定義確認をしておきたい。

【高藤回答】

インプラント周囲炎は骨吸収を伴うものと定義されている。天然歯の歯肉炎がインプラント周囲粘膜炎という名前になっていて、天然歯でいう歯周炎がインプラント周囲炎で、骨吸収があるかないかが 1 番大きな違いというように定義されている。

【野田副査】

なるほど。今回はインプラント周囲炎の関連細菌ということで PCR かけているが、10 菌種ぐらいをオーダーできるのか。

【高藤回答】

10 菌種依頼している。

【野田副査】

オレンジとレッドの品種が検出されるのはその 30 名からどのくらいの率か。
全員から出たわけではないと思うが、平均値をとって t 検定をやっているのか。

【高藤回答】

平均値からも分かるように、健常者はプラークコントロールがおよそ 15%を維持されている患者を対象としているので、口腔内の状態自体がもともとよいので、検出されるほうがまれである。

【野田副査】

例えばその 2 菌種は結構出ているが、denticola があれば、何人ぐらいの方から検出されたのでしょうか。

【高藤回答】

半数以下だったと思われる。

【野田副査】

インプラント周囲炎を起こしてる人では、かなりの排膿があったのではないかと。重篤のペリオ以上に免疫がうまく働いてないのではないかと思う。インプラントには菌の増殖を抑える作用はない。例えば歯根膜が炎症を起こした時には、抑制物を分泌して抵抗するけれど、多分インプラントではやられ放題になる。だから、インプラント治療開始前にリスク因子として、検出される菌を抑えてからインプラント治療をするとよいと思う。

しかし、ペーパーポイントに入り方を見て、これそんなに菌が取れるのか疑問が残る。

【岸副査】

取れるのではないかと。昔、ポケットが 3 ミリ以下の学生の舌試料を取ったら、結構な頻度で出てきて木村元教授が驚いていた。PCR 法で行ったが、P で抜歯した場合、抜歯窩付近に菌がいたりすると、それが舌などに残存していて、それがまた歯肉溝に入ってくることもある。

【野田副査】

このような評価をする時は歯周科の意見をよく聞いた方がよい。

【岸副査】

サンプリングに関してはいつも議論されている。

【野田副査】

菌の評価について、細菌カウンターに関しては、CFU カウントよりも確かパナソニック製機器はレベルで教えてくれる。レベルでの、統計的検討のほうが分かりやすいのではないかと。

【高藤回答】

患者さんはその方がわかりやすく喜んでいました。1週間でレベルが低くなるケースが多い。

【野田副査】

この洗口液の評価で、来院して測る、洗口して測る、20分後に測るっていうデザインはよくある方法なのか。洗口後20分後に評価するという方法は何かを参考にしたのか。

【高藤回答】

これは、20分ぐらい経つと浸透してきて、もう少し細菌数が減るのではないかという推測から実施したもので、過去の報告にはない。

【近藤副査】

メーカーから持続効果があるから、実験室での話だと思うが、時間をおいた方がその効果があるとされた。

【野田副査】

1回目が減るのは、1回拭ったところをまた拭っているから、きれいになっただけってことも考えられるか。

【岸副査】

部位を変えているのであれば問題ない。舌は大きいから。

【近藤副査】

論文の査読でもそのような質問があつて記載されている。ポケットの深さについても、指摘があつた。

【野田副査】

気になったのは、2度拭きしてないか、ポケットが浅いという点である。

【岸副査】

野田副査が指摘したように、今回のデータは全部平均値で出しているのだが、カットオフ値で切って、2×2の分割表でカイ二乗検定やフィッシャーの直接確率とかやった方が、説得力もあると思う。

【岸副査】

Steel-Dwass 法っていうのは、変数は順位変数として扱うのか

【高藤回答】

順位付けしている。

【野田副査】

クラスカル・ウォリスみたいなものなのか。

インプラント周囲炎のポケット内の菌叢を歯周病と比較していくと見解が得られると思う。

【岸副査】

インプラント周囲炎の膿は、歯周炎の膿と違って活動性がないように見えるが歯周病性細菌

は出てくる。

【野田副査】

多分嫌気性だからだと推測できる。

結論のスライドで、「感染性疾患のリスクを軽減する」などと、もっと明確にしてはどうか。

【岸副査】

ちょっとぼやかしておいたほうがいいかなとも思う。

【近藤主査】

本日は、論文の内容だけでなく、今後の展望についても、たいへん有意義な討論をできたことと、御礼申し上げます。