

抗菌光線力学療法を用いたインプラント周囲炎の非外科的治療効果

小川 洋一

明海大学 歯学部 口腔生物再生医工学講座 歯周病学分野

(指導: 申 基喆 教授)

Efficacy of Non-surgical Therapy Using Antimicrobial Photodynamic
Therapy on Peri-implantitis Patients

Yoichi OGAWA

Division of Periodontology, Department of Oral Biology and Tissue
Engineering, Meikai University School of Dentistry

(Mentor: Prof. Kitetsu SHIN)

歯乙 第 619 号 2015 年 3 月 26 日

要旨

インプラント周囲炎に対する抗菌光線力学療法 (antimicrobial photodynamic therapy : a-PDT) の有効性を、術前および術後 2 週の臨床パラメータと細菌検査から評価した。明海大学歯学部附属明海大学病院歯周病科に来院した患者のうち、インプラント上部構造装着後 2 年以上経過しているインプラント周囲炎患者 17 名のインプラント 33 本を対象とした。a-PDT は、メチレンブルーをインプラント周囲ポケットに注入後、低出力赤色半導体レーザー (Periowave) を照射した。すなわち、対象となったインプラントの頬口蓋舌側近遠心の 4 部位に対し計 4 分照射した。臨床パラメータは、modified Sulcus Bleeding Index (mBI), probing attachment level (PAL), bleeding on probing (BOP) について評価した。細菌検査の評価項目は、総細菌数、歯周病原細菌の菌数および対総菌数比率とした。mBI は術前と術後を比較し、有意に低下し ($p < 0.01$), BOP 陽性のインプラント本数は 28 本から 15 本に減少した。PAL は、術前と術後を比較し、改善量に有意差は認めなかった。細菌検査の評価項目では、いずれも改善傾向を認めたが、細菌数だけを比較した場合には、個体差が大きく有意な差は認められなかった。一方、対総菌数比率においては、*P. gingivalis* および red complex において処置後で有意な低下を認めた。また、より周囲組織の破壊が進行した症例で

は、*P. intermedia* においても有意差を認めた。インプラント周囲炎患者に対し、a-PDTはインプラント周囲組織の炎症軽減とインプラント周囲ポケット内の歯周病原細菌の減少に有効であることが示唆された。

キーワード： 抗菌光線力学療法 (a-PDT), インプラント周囲炎, 歯周病原細菌

Abstract

The purpose of the present study was to evaluate the clinical and microbiological effects which prior to treatment and post treatment for two weeks of antimicrobial photodynamic therapy (a-PDT) on peri-implantitis. A total of 17 patients, number of 33 implants were included, which have passed for two years or more after the treatment. The photosensitizer was applied to the bottom of the pocket for a-PDT. Following this, the pocket was exposed to the laser irradiation. The treatment was done in four sites per implant, in total 4 minutes. The clinical parameters were assessed for mBI, PAL, BOP, and microbiological parameters were assessed for total bacterial count, bacterial count of periodontopathic bacteria (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, and *Prevotella intermedia*), in the total population of bacteria. In the clinical parameters, mBI and BOP were significantly decreased ($p < 0.01$) compared with before treatment. While there was no significance of bacteria counts before and after the treatment, ratio versus total bacterial counts were significantly reduce in *P. gingivalis* and red complex. These results suggest that a-PDT was useful to reduce inflammation and periodontopathic bacteria on peri-implantitis patients.

Key words: antimicrobial photodynamic therapy (a-PDT), peri-implantitis, periodontopathic bacteria

緒言

インプラント周囲粘膜炎 (peri-implant mucositis) とインプラント周囲炎 (peri-implantitis) は、ともに口腔内に存在する細菌感染によって発症することが知られている¹⁻⁴⁾。インプラント周囲粘膜炎に対する治療法としては、非外科的にインプラント周囲を除染することが有効であると報告されている⁵⁻⁷⁾。それに対し、インプラント周囲炎においては、インプラント表面に付着した細菌性バイオフィルムを完全に破壊、除去するだけでなく、吸収した周囲骨の整形や再生をも考慮する必要があるため、外科的除染が必要であるとされている⁸⁻¹¹⁾。しかし、インプラント周囲炎の治療においては、歯周治療と同様、プラークコントロールや感染源の除去といった基本治療が達成されなければ、外科的対応はあり得ない。さらに、外科的除染は、インプラント周囲軟組織の退縮に伴うインプラント周囲の審美性の低下や、全身的な問題により観血的処置が行えない場合は困難となる。また、外科的手法においてインプラント体表面に対する物理的除染や、化学的除染法も用いられているものの、未だにインプラント周囲炎に対する治療法は確立されていないのが現状である。我が国におけるインプラント周囲炎発症の実態についても、日本歯周病学会においてインプラント治療に関するアンケート調査報告があり、インプラント周囲炎が機能後の合併症

で最も有病率が高く、これを放置することによってインプラントの喪失につながることを示唆されるも、有効な対処法が確立していないことが問題点として挙げられた¹²⁾。

光線力学療法 (photodynamic therapy) は、ポルフィリン関連化合物が有する腫瘍組織・新生血管組織への特異的集積と光励起による一重項酸素の細胞破壊効果を利用した治療法で、旧来のレーザーによる光凝固・蒸散などの物理的破壊とは異なり、低エネルギーでのレーザー照射により病変を選択的に治療することから、正常組織に対する障害は少ない治療法として注目されている^{13,14)}。

この中で、1992年にDobsonとWilsonら¹⁵⁾がPDTによる歯周病原細菌の殺菌効果を報告して以来、特にこの殺菌作用に注目し、抗菌光線力学療法 (antimicrobial photodynamic therapy : a-PDT)として、歯科治療への応用に向けた検討が報告されるようになった。また、Haasら¹⁶⁾によって、インプラント周囲炎に対する治療法としての有用性を示唆する基礎的研究も報告されるようになり、インプラント治療に対してもa-PDTを応用することが考えられるようになってきた。a-PDTの殺菌メカニズムは、光感受性物質 (トルイジンブルーO : TBO, メチレンブルー : MB) に低出力半導体レーザーを照射することにより、光感受性物質が低エネルギー基底状態から励起状態に移行することで、活性酸素種 (一重項酸素や遊離基) が産生される。これらが脂質過酸化反応および細菌の細胞膜損傷

を経て主に病原菌を破壊すると考えられている¹⁷⁾。このa-PDTは薬剤耐性菌が出現せず副作用が少ないことが報告されている¹⁸⁾。このような理由から、a-PDTはインプラント周囲炎患者の基本治療、外科的治療そしてメインテナンスを行う上で、有用であると考えられる。

インプラント周囲炎治療に対するa-PDTの有効性に関しては、*in vivo*においてShibliら¹⁹⁾は、インプラント表面に付着した *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) がa-PDTにより有意に減少したことを報告している。また、臨床研究では、Haasら²⁰⁾はインプラント周囲炎に対し、a-PDT後、自家骨、expanded-polytetrafluoroethylene (e-PTFE) 膜を骨内欠損部に充填した結果、骨造成を認めた症例を報告している。

しかし、インプラント周囲炎に対し非外科的にa-PDT単独処置を行った場合の有効性を詳細に検討した報告はない。そこで、本研究はインプラント周囲炎に対するa-PDTの有効性を臨床パラメータと細菌検査結果を用いて評価した。

材料と方法

1. 被験者の選択

本研究は、明海大学歯学部倫理委員会の承認 (承認番号 A1012) を得て行った。被験者は、明海大学歯学部附属明海大学病院歯周病科に来院している患者のうち、自院、他院を問わずインプラント治療を受けた患者 200 人を対象にインプラント周囲組織検査を実施し、以下の条件を満たしたインプラント周囲炎と診断された者を対象とした。すなわち、1) インプラント上部構造装着後 2 年以上経過しているインプラント部位のうち、2) インプラントプラットフォームからポケット底部までの距離 (probing attachment level : PAL) が 4 mm 以上、3) bleeding on probing (BOP) が陽性、さらには 4) エックス線写真上でインプラント周囲に骨吸収を認めるという条件を満たした患者のうち、1) インプラント体の動揺を認める者、2) 妊娠中または授乳中の者、3) 過去 3 か月間に抗生物質や抗炎症剤などの薬剤を服用した者を除外した、17 人 (男性 9 人、女性 8 人、平均年齢 : 64.8 ± 7.7 歳) の計 33 本のインプラントを本研究の対象とした。対象患者は全員、本研究の趣旨、内容を理解し、口頭および書面にて同意を得て研究を行った。

2. a-PDT 処置手順

術前処置として、ブラッシング指導および天然歯の歯肉縁上スケーリングを行った。a-PDT は、インプラント周囲に付着しているプラークを綿球で除去し、コットンロールにて簡易防湿を行った。その後、インプラント体 1 本当たり 200 μ l の光感受性物質 (0.01% methylene blue : MB, Biogel, Ondine Biopharma , Vancouver, Canada) をインプラント周囲溝に注入し 60 秒後、低出力半導体レーザー (Periowave, Periowave Dental Technologies , Vancouver, Canada, Fig 1) の照射チップ先端をインプラント周囲溝に挿入し、照射した。

低出力半導体レーザーの照射条件として、波長 670 nm, で照射出力 220 mW/cm² で照射部位を 4 部位 (唇頬側の近心隅角部, 中央部, 遠心隅角部と舌口蓋側中央部) とし、照射時間を 1 部位 60 秒, 1 本当たりの照射時間は計 4 分とした。a-PDT 後は、インプラント周囲をインプラント体 1 本当たり 5 ml の滅菌生理食塩水にて洗浄を行った。MB の注入および a-PDT の照射は、技術的手技による誤差を極力無くするため、1 人の術者が行った。a-PDT は、治療開始時, 1 週(w)後, 2 週後, 3 週後の計 4 回, 対象のすべてのインプラントに行った。

3. 臨床評価および細菌学的評価

臨床評価は、a-PDT 治療前 (術前), および治療終了 2 週経過時 (術後) に以下の項目につき、術者とは異なる歯科医師 1 名がすべて計測した。

1) 臨床評価

(1) 改良型プラーク付着指数 (modified Plaque Index; mPII)

Mombelli²¹⁾の方法に準じて mPII の測定を行った。測定はプラスチックプローブ (PCV12KIT6, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) および目視によって行った。レーザー照射部位と同じ近遠心頬舌側の 4 部位で行い、以下のスコアの最大値を評価に用いた。すなわち、スコア 0；目視およびプローブの擦過により、上部構造物表面にプラークが確認できない、1；上部構造分辺縁部へのプローブの擦過によりわずかにプラークが検知、2；目視によりプラークが確認できる、3；多量の軟性物質の沈着を認める、に分類した。

(2) 改良型歯肉炎指数 (modified Sulcus Bleeding Index; mBI)

Mombelli²¹⁾の方法に準じて mBI の測定を行った。測定は前述のプラスチックプローブを用いて、レーザー照射部位と同じ近遠心頬舌側の 4 部位で行い、以下のスコアの最大値を評価に用いた。すなわち、スコア 0；インプラントに隣接した粘膜辺縁に沿ってプロービングした際に、出血がない、1；孤立した出血点がみられる、2；インプラント粘膜辺縁に沿った線上の出血、3；著明な出血、に分類した。

(3) PAL

プラスチックプローブを用いて 6 点法 (唇頬側と舌口蓋側の近心隅角部, 中央

部，遠心隅角部) にて 1 mm 単位で計測した。測定は，インプラントのプラットフォームからプローブ挿入最深部までの距離とし，最深値を評価に用いた。PAL 改善量は，術前の各項目の計測値から術後の計測値を引いた値によって算出し，PAL の改善率は $[\text{PAL 改善量} / \text{PAL 術前の計測値}] \times 100 (\%)$ として算出した。

(4) BOP

PAL 測定後 30 秒経過時のインプラント周囲ポケットからの出血の有無を確認し，測定部位中の出血部位数の変化を評価した。

2) インプラント周囲炎の重症度分類

重症度の分類は，インプラントごとに PAL が 4 mm または 5 mm で，デンタルエックス線写真上のインプラント長径に対するインプラント周囲骨吸収率が 25 % 未満であった軽症群と，PAL \geq 6 mm でインプラント周囲骨吸収率が 25 % 以上であった重症群に分類した²²⁾。

3) 細菌学的評価

細菌学的評価には，real-time PCR 法 (サリバチェック・ラボ，ジーシー，東京) を用い，総細菌数および歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)，*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*)，*Treponema denticola* (*T. denticola*)，*Tannerella forsythia* (*T. forsythia*)，*Prevotella intermedia* (*P. intermedia*)，の計 5 菌種のインプラント周囲ポケット内の菌数，

および対総菌数比率を測定した²³⁻²⁶。測定には、TaqManプローブ法、および *Prevotella nigrescens* 関連のプライマーを使用した。通常、健常者の対総菌数比率は *P. gingivalis*, *P. intermedia* 共に 0% で検出されないことが報告されている²⁷。細菌の採取方法は、コットンロールを用いた簡易防湿下で、被験部位に付着しているプラークを綿球で除去し、風乾後、2本の滅菌ペーパーポイント (アブソーベントポイント #30, Johnson & Johnson, 東京) を歯周ポケット内に挿入し、10秒間静置後、取り出し添付された検体チューブに回収した。対総菌数比率は、総菌数 (歯周病原細菌を含めたすべての細菌数) に対する歯周病原細菌数の割合として算出し、減少率は、相対的評価を行うため、術後2週の対総菌数比率/術前の対総菌数比率の平均値で算出した。

4) 統計分析

臨床的パラメータのうち、mBI および BOP の術前、術後の比較は χ^2 検定を用い、PAL 改善率・改善量の比較は paired *t*-test を用いた。細菌検査については、総細菌数の比較は、paired *t*-test を用い、各種歯周病原細菌比率および red complex 比率の減少率については、Wilcoxon 順位和検定を用いた。

結果

1. 被験インプラント本数および被験部位

対象となった患者は 17 名で、インプラント本数は 33 本であった。対象となったインプラントの埋入部位別本数は、上顎前歯 8 本、上顎小臼歯 7 本、下顎小臼歯 2 本、および大臼歯 12 本であった。重症度による分類²²⁾では、軽症群は 8 人 (16 本) であり、重症群は 9 人 (17 本) であった。

2. 臨床評価および細菌学的評価

1) 臨床評価

実験期間中の患者のプラークコントロール状態を示す mPLI (mean ± SD) については、術前が 0.55 ± 0.99 に対し、術後が 0.24 ± 0.44 で、術前術後の mPLI については有意な差はなかった。この結果から、処置前後の患者自身によるブラッシング状況に変化はないと判断した。

PAL (mean ± SD) は、術前 6.0 ± 1.7 mm であったのに対し、術後は 5.0 ± 1.4 mm であった (Fig 2-A)。また、PAL 改善量は 0.9 ± 1.0 mm、改善率は $14.4 \pm 13.9\%$ であったが、術前・後を比較して改善傾向が認められたが、有意差は認められなかった。mBI は、術前のスコア 0 が 10 本、1 が 13 本、2 が 6 本、3 が 4 本で、術後は、0 が 25 本、1 が 5 本、2 が 2 本、3 が 1 本であった (Fig 2-

B). 術前, 術後のスコアを比較すると, 術後において有意な改善を認めた ($p < 0.01$). さらに BOP 陽性を認めたインプラントは, 術前 28 本であったのに対し, 術後は 15 本に減少していた (Fig 2-C).

2) 細菌学的評価

総細菌数 ($\times 10^6$ cells) は, 術前 2.7 ± 4.0 であったのに対し, 術後は 2.1 ± 3.9 と減少傾向を示し, 対象患者の内訳として 17 人中 11 人 (約 65%) で減少傾向を認めたが有意差は認められなかった。今回測定した歯周病原細菌のうち, *P. gingivalis* は 17 人中 14 人, *A. actinomycetemcomitans* は 3 人, *T. denticola* は 11 人, *T. forsythia* は 16 人, *P. intermedia* は 6 人, red complex (*P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*) は 16 名でそれぞれ検出された。

歯周病原細菌の術前後の菌数を table 1 に示す。すなわち, *P. gingivalis* は術前 $1.3 \pm 3.3 (\times 10^5 \text{ cells})$ であったのに対して術後が $1.9 \pm 7.2 (\times 10^5 \text{ cells})$, *A. actinomycetemcomitans* が術前 $5.9 \pm 2.2 (\times 10^3 \text{ cells})$ であったのに対して術後が $1.4 \pm 3.6 (\times 10^2 \text{ cells})$, *T. denticola* は術前 $4.2 \pm 1.1 (\times 10^4 \text{ cells})$ であったのに対して術後が $5.0 \pm 1.7 (\times 10^4 \text{ cells})$, *T. forsythia* は術前 $1.6 \pm 3.8 (\times 10^4 \text{ cells})$ であったのに対して術後が $3.1 \pm 1.1 (\times 10^4 \text{ cells})$, *P. intermedia* は術前 $1.0 \pm 4.3 (\times 10^5 \text{ cells})$ であったのに対して術後が $7.8 \pm 2.0 (\times 10^3 \text{ cells})$, さらに red complex が術前 $1.9 \pm 4.8 (\times 10^5 \text{ cells})$ であったのに対して, 術後は $2.7 \pm 1.0 (\times 10^5 \text{ cells})$ であった。

患者別に見た内訳では、*P. gingivalis* は 14 人中 11 人 (79 %), *A. actionomycetemcomitans* は 4 人中 2 人 (50 %), *T. denticola* は 11 人中 6 人 (55 %), *T. forsythia* は 16 人中 10 人 (63 %), *P. intermedia* は 7 人中 3 人 (43 %), Red complex は 16 人中 12 人 (75 %) に減少傾向を認めた。

さらに、Fig 3 に示すように 総細菌数に対する各種歯周病原細菌数の比率で a-PDT 前後を比較すると、すべての歯周病原細菌で比率が減少していることが分かった。歯周病原細菌の術前後の対総細菌数比率 (%) は、*P. gingivalis* の術前は 14.7 ± 25.7 であるのに対し術後は 4.0 ± 5.9 となり、Wilcoxon の順位和検定の結果から有意な差を認めた ($p < 0.05$)。 *A. actionomycetemcomitans* の術前が 2.7 ± 3.2 であるのに対し、術後が 0.1 ± 0.1 とそれぞれ低下傾向を示したが、有意な差は認めなかった。*T. denticola* の術前が 1.2 ± 1.2 であるのに対し、術後が 0.6 ± 0.7 , *T. forsythia* の術前が 1.6 ± 2.7 であるのに対し、術後が 0.4 ± 0.6 , *P. intermedia* の術前は 4.3 ± 5.7 であるのに対し、術後は 0.7 ± 1.4 , それに対し、Red complex は術前が 12.7 ± 25.7 であるのに対し、術後は 4.4 ± 7.1 で有意な差 ($p < 0.05$) を認めた。

3. 重症度別にみた臨床的評価および細菌学的評価

1) 臨床評価

(1) PAL (Fig 4)

軽症群の術前は 4.5 ± 0.7 mm であるのに対し、術後は 4.0 ± 0.9 mm、改善量は 0.5 ± 0.6 mm、改善率は $10.3 \pm 14.9\%$ で、改善傾向が認められたが、有意差は認められなかった。また、重症群の PAL は、術前 7.2 ± 1.2 mm に対して、術後は 5.9 ± 1.1 mm、改善量は 1.4 ± 1.0 mm、改善率は $18.2 \pm 12.3\%$ であり、術前術後を比較し改善傾向が認められたが、軽症群と同様に有意差は認められなかった。

(2) mBI (Fig 5)

軽症群 (8 人, 16 本) の術前スコア 0 が 6 本, 1 が 6 本, 2 が 3 本, 3 が 1 本であったのに対し、術後スコアは、0 が 14 本, 1 が 1 本, 2 が 1 本, 3 が 1 本であった。術前、術後のスコアを比較すると、術後において有意な改善を認めた ($p < 0.01$)。また、重症群 (9 人, 17 本) の術前スコア 0 が 3 本, 1 が 8 本, 2 が 3 本, 3 が 3 本で、術後スコアは、0 が 11 本, 1 が 4 本, 2 が 1 本, 3 が 1 本であった。術前、術後のスコアを比較すると、術後において有意な改善を認めた ($p < 0.01$)。軽症群と重症群を比較すると、軽症群で a-PDT 処置後、mBI が 0 を示した部位が多く、軽症群でより改善している傾向を示した。

(3) BOP (Fig 6)

軽症群では術前 BOP 陽性を認めたインプラントは 14 本、術後は 4 本と、陽性部位は減少していた。また、重症群の術前に BOP 陽性であったインプラン

トは 15 本から術後は 8 本に減少していた。軽症群と重症群を比較すると、軽症群で BOP 陰性部位数が増加しており、軽症群でより改善している傾向を認めた。

2) 細菌学的評価

(1) 軽症群

軽症群における総細菌数 ($\times 10^6$ cells) は、術前が 1.7 ± 2.5 であるのに対し、術後は 1.1 ± 2.1 と、減少傾向を認め、8 人中 7 人 (60%) が減少傾向を認めたが、有意差は認められなかった。

術前の各歯周病原細菌の対総細菌数比率 (%) を Fig 7 に示す。 *P. gingivalis* が術前 11.1 ± 10.0 であったのに対し、術後は 4.4 ± 5.9 と有意に減少した。また red complex では、術前 9.3 ± 12.4 であったのに対し、術後では 3.6 ± 5.3 と有意に減少した。その他の歯周病原細菌では、減少傾向を示すが、有意差はなかった。重症群で有意差の認められた *P. intermedia* は軽症群では有意差を認めなかった。

(2) 重症群

重症群における総細菌数 ($\times 10^6$ cells) は、術前が 3.4 ± 4.8 であるのに対し、術後は 2.7 ± 4.9 と、減少傾向を認めたが、有意差はなかった。

術前の各歯周病原細菌の対総細菌数比率 (%) を Fig 8 に示す。 *P. gingivalis* が

術前 16.9 ± 32.5 であったのに対し、術後は 3.7 ± 6.3 と有意に減少した。 *P*

intermedia は術前 7.4 ± 9.4 であったのに対し、術後は 2.3 ± 2.5 と有意に減少した。 さらに red complex では、術前 17.2 ± 31.4 であったのに対し、術後では 5.0 ± 8.5 と有意に減少した。 その他の歯周病原細菌では、減少傾向を示すが、有意差はなかった。

考察

1. インプラント周囲炎に対するa-PDTの応用について

インプラント周囲粘膜炎²⁸⁾はインプラント周囲の軟組織に局限した可逆的な炎症性の変化である一方、インプラント周囲炎はインプラント周囲組織における支持骨の喪失を伴う炎症性反応と定義されている²⁹⁾。インプラント周囲組織はコラーゲン線維の走行や上皮による封鎖性の違いにより、天然歯周囲組織と比較して細菌感染に対する抵抗力は低いと言われている³⁰⁻³²⁾。また、インプラント周囲炎はインプラント体表面に付着した歯周病原細菌により引き起こされることが報告されており^{33,34)}、その中でもインプラント周囲炎を発症しているインプラント体からは、*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* といったRed complexに加えて、*A. actinomycetemcomitans* 等のグラム陰性桿菌が比較的高頻度で検出されたと報告されている³⁴⁾。

インプラント周囲炎の治療は歯周治療と同様に、まず基本治療（非外科的治療）を行い、インプラント周囲組織の炎症症状を改善することが必要である。

非外科的治療には超音波スケーラー³⁵⁾、プラスチックスケーラー³⁶⁾あるいは滅菌生理食塩水などを用いる機械的除染法、グルコン酸クロルヘキシジンなどを用いたイリゲーション³⁷⁾や抗菌薬の局所投与などの化学的除染法などによる治

療法がすでに行われているが、インプラント体の複雑な構造から前述の治療法を単独で処置しても効果は少ないことから、これら非外科的方法を併用することでより有効な治療結果が得られると考えられている³⁸⁾。また、これら非外科的治療法のうち従来からある治療法として、抗菌薬の投与や浸潤麻酔下での創面の搔爬などが行われてきたが、前者では耐性菌の発現、後者の治療法では、インプラント体表面形態を壊してしまうなどの併発症が問題となる。それらの問題点を有する治療法に対しa-PDTは、インプラント体表面形状への影響が最小限で、さらに比較的短時間で患者への侵襲や併発症が少なく、効果的に細菌数を減少させることができる可能性が考えられる³⁹⁾。そこで、まず本研究でインプラント周囲炎に対し、非外科的治療法としてのa-PDTの有効性を検討する目的で、a-PDTを単独で用いた化学的除染の有効性を検討した。

2. a-PDTによる臨床パラメーターの改善について

臨床パラメーターによる評価において、術後のmBIは、術前と比較し有意な改善を認め、BOPにおいても有意な改善を示した。一方、PALは術前と術後を比較し、改善傾向は認められるものの有意差は認めなかった。Bassettiら⁴⁰⁾は、インプラント表面に対し、チタン製のキュレットで物理的除染を行った後にa-PDTを行い、各臨床パラメータを術後3、6か月に評価した結果、BOP陽性部位

数は有意に減少したが、PALは改善傾向を認めるものの有意差は認めなかったと報告しており、a-PDT単独使用で検討した本研究の結果と類似している。

さらに、重症度別にみたmBIは重症群、軽症群の術前・後を比較し、同様に有意な差を認めた。また、PALについても同様に重症群、軽症群の術前・後を比較し改善傾向は認められるものの有意な差を認めなかったが、BOPは重症群、軽症群の術前・後を比較し両群に有意な差を認め、特に軽症群で有意な改善傾向を認めた。mBIはインプラント周囲粘膜表層の炎症程度を評価し、BOPはインプラント周囲ポケット深部の炎症程度を評価する項目であることから、本研究の結果から、a-PDTはインプラント周囲粘膜の表層および深層部に対し作用し、炎症が消退されたと考えられる。近年の研究結果から、PDTにより宿主の細胞に対する作用が明らかとなりつつあり、好中球に対して作用し、その遊走活性の亢進や、macrophage inflammatory protein (MIP)-2 産生の促進などが報告⁴¹⁾されており、a-PDTの刺激に対する宿主の反応によっても局所の炎症症状が改善したことも推察される。

3. 細菌学的評価について

炎症を伴うインプラント周囲溝には、深い歯周ポケットと同様にグラム陰性嫌気性菌が多く検出され、それら細菌が臨床状態の悪化に大きく関与している

ことが報告されている⁴²⁾。口腔内に歯周病原細菌が検出される状況ではインプラント周囲炎発症の危険性が高いと考えられており、インプラント周囲炎に対し、臨床パラメータに加えて細菌検査を行うことは、細菌学的なリスク判定、予後の予測において有用な手段であると考えられる。しかし、インプラント周囲炎に対し、a-PDT単独を行い、細菌検査を行った報告はされていない。そこで本研究では、インプラント周囲炎に対しa-PDTを行い、臨床学的評価、細菌学的評価を検討した。インプラント体表面に付着した歯周病原細菌に対する殺菌作用については、すでに寺西ら⁴³⁾が*in vitro*の評価系において検討し、その有効性を報告している。すなわち、複雑な表面形態を有するインプラント体に着した歯周病原細菌 (*P. gingivalis* および *A. actinomycetemcomitance*) に対しa-PDTを行うと、照射時間依存的にこれら細菌を効率よく殺菌することを明らかにしている。このように、a-PDTは、器具の到達が困難な複雑な形態をしたインプラント体表面に対しても効果的であると考えられる。

4. 光感受性物質 (メチレンブルー) の選択的作用について

本研究で使用したPeriowave (Periowave Dental Technologies) の他に、0.01 % MB溶液に低出力赤色半導体レーザーとしてHELBO (波長 : 670 nm, 出力 : 75 mW/cm², HELBO Photodynamic Systems, Grieskirchen, Austria) がある。さらにそ

の他の光感受性物質としてトルイジンブルーOをを使用したa-PDTには、Fotosan (波長 : 630 nm, 出力 : 2,000mW/cm², CMS Dental, Copenhagen, Denmark) などが存在する。

細菌学的評価において、本研究では総細菌数は術前、術後で減少傾向を認めるものの有意差は認められなかった。Marottiら⁴⁴⁾はインプラント表面の除染方法にa-PDTを用い、総菌数の減少を認めたが、有意差は認められなかったと報告しており、本研究の結果と類似している。また、今回検査した歯周病原細菌については、*P. gingivalis*およびred complexにおいて術前後で有意差を認めた。また、より進行したインプラント周囲炎では、*P. intermedia*についても術前後で有意差が認められた。これらの結果から、総菌数に大きな変化はないものの、歯周病原細菌数が有意に減少していることから、メチレンブルーを用いたa-PDTは歯周病原細菌に対して選択的に作用している可能性が考えられた。この原因として、光感受性物質として使用したメチレンブルーは、点眼薬などに使用されるサルファ剤などに代表されるグラム陰性菌の外膜への透過性を増大させるサイアジン系薬剤の一種で、分子量が比較的小さいこと、グラム陰性菌の細胞外膜に親和性のあるカチオン性であることから、より歯周病原細菌であるグラム陰性菌に対する選択的作用があることが知られている¹⁶⁾。本研究では、インプラント周囲ポケット内細菌検査を術後2週で実施したが、この理由とし

て、インプラント周囲溝内の歯周炎に関連する細菌の初期コロニー化は2週間で起こりはじめると報告³¹⁾されていることから、今回行った処置の直接的な有効性を検討するため、術後2週でサンプリングを実施した。今後はさらに長期にわたる影響も検討する必要があると考える。

インプラント周囲の病変には歯周炎に関連した特異的細菌が関与していることが過去の研究により示唆されている一方で、Quirynenら⁴⁵⁾が報告しているように、インプラント周囲組織からは*Staphyrococci*や腸内桿菌、真菌といったような微生物が比較的高頻度で分離され、歯周病原細菌以外の微生物もインプラント周囲炎の病巣から分離されている³⁾。a-PDTは、今回検査した歯周病原細菌だけでなく、ウイルスや原虫などに対する作用も知られている⁴⁶⁾ことから、その他の微生物に対しても作用している可能性がある。

5. インプラント周囲炎治療の問題点とインプラント周囲炎治療におけるa-PDTの今後の課題

インプラント周囲炎の発症は、歯周病原細菌の感染が直接的な原因となるが、この細菌性プラークの蓄積には、インプラント周囲の解剖学的な形態が影響する。Chungら⁴⁷⁾は、角化粘膜および付着粘膜の有無がインプラント周囲に付着するプラークの蓄積に関連があると報告している。したがって、インプラ

ント周囲炎に対する治療は、今回のような歯周病原細菌の殺菌だけでなく、これら解剖学的形態を含む局所因子や、全身因子の改善もあわせ行うことが必要であると考える。また、インプラント周囲炎では、インプラント周囲軟組織の炎症だけではなく、骨吸収を伴うが、その多くは垂直性骨欠損を呈しており、これら骨欠損形態の改善も行わなくてはインプラント周囲炎の再発につながる。しかし、現在のところ、より進行した骨欠損を有するインプラント周囲炎の治療は困難である⁴⁸⁾とされており、今後さらに優れたインプラント体の除染法と周囲組織の再生療法の検討が必要であると考える。

以上のように、インプラント周囲炎に対する治療法には、インプラント体表面の除染と周囲組織の再生療法が必要である。この中でインプラント体表面の除染は、その複雑な表面構造から、インプラント周囲炎に対して物理的除染によりバイオフィルムを除去し、残存した浮遊性細菌の殺菌を行うために a-PDT を併用することで感染源の除去が効果的に行えることが示唆された。さらに、今回検討した a-PDT は、反復使用によっても、耐性菌が出現しないという利点もあることから、インプラント治療後のメンテナンスにおいて本治療法を定期的実施することによってインプラント周囲炎発症予防につながる可能性も考えられる。

結論

インプラント周囲炎患者に対し、非外科的に a-PDT を行うことにより、周囲粘膜の炎症状態を表す指数である mBI と BOP を有意に低下させることから、a-PDT は単独複数回の処置によって、インプラント周囲組織の炎症軽減に有効であることが明らかとなった。さらに a-PDT は、インプラント周囲ポケット内の歯周病原細菌 (*P. gingivalis*, *P. intermedia* および red complex) 比率の減少に有用であることが示唆された。

謝辞

稿を終えるにあたり，本研究にご指導，有用なご助言を賜りました明海大学
歯学部口腔生物再生医工学講座歯周病学分野 申 基喆 教授に深甚なる謝意
を表します。さらに，ご指導，ご校閲を賜りました本学機能保存回復学講座歯
科生体材料学分野 中寫 裕 教授，口腔生物再生医工学講座微生物学分野 大
森喜弘 教授，ならびに機能保存回復学講座保存治療学分野 横瀬敏志 教授に
深甚なる謝意を表します。また，本研究に終始ご指導を賜りました歯周病学分
野の辰巳順一准教授に謝意を表し，ご協力を賜りました歯周病学分野の先生方
に，厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) Mombelli A : Etiology, diagnosis, and treatment considerations in peri-implantitis.
Curr Opin Periodontol **4**, 127-136, 1997
- 2) Leonhardt Å, Dahlén G and Renvert S : Five-year clinical, microbiological, and radiological outcome following treatment of peri-implantitis in man. J Periodontol **74**, 1415-1422, 2003
- 3) Koyanagi T, Sakamoto M, Takeuchi Y, Maruyama N, Okumura M and Izumi Y : Comprehensive microbiological findings in peri-implantitis and periodontitis. J Clin Periodontol **40**, 218-226, 2013
- 4) Augthun M and Conrads G : Microbial findings of deep peri-implant bone defects. Int J Oral Maxillofac Implants **12**, 106-112, 1997
- 5) Heitz-Mayfield LJ, Salvi GE, Botticelli D, Mombelli A, Faddy M and Lang NP : Implant Complication Research Group. : Anti-infective treatment of peri-implant mucositis: a randomised controlled clinical trial. Clin Oral Implants Res **22**, 237-241, 2011
- 6) Zeza B and Pilloni A : Peri-implant mucositis treatments in humans: a systematic review. Annali di Stomatologia **3/4**, 83-89, 2012

- 7) Porras R, Anderson GB, Caffesse R, Narendran S and Trejo PM : Clinical response to 2 different therapeutic regimens to treat peri-implant mucositis. *J Periodontol* **73**, 1118-1125, 2002
- 8) Tinti C and Parma-Benfenati S : Treatment of peri-implant defects with the vertical ridge augmentation procedure: a patient report. *Int J Oral Maxillofac Implants* **16**, 572-577, 2001
- 9) Froum SJ, Froum SH and Rosen PS : Successful management of peri-implantitis with a regenerative approach: a consecutive series of 51 treated implants with 3- to 7.5- year follow-up. *Int J Periodontics Restorative Dent* **32**, 11-20, 2012
- 10) Renvert S, Lindahl C, Roos Jansåker AM and Persson GR : Treatment of peri-implantitis using an Er:YAG laser or an air-abrasive device: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* **38**, 65-73, 2011
- 11) Yamamoto A and Tanabe T : Treatment of peri-implantitis around TiUnite-surface implants using Er:YAG laser microexplosions. *Int J Periodontics Restorative Dent* **33**, 21-30, 2013
- 12) 辰巳順一, 申 基喆, 児玉利朗, 日下部善胤, 太田幹夫, 佐藤秀一, 石原裕一, 久保田健彦, 佐瀬聡良, 長谷川嘉昭, 廣瀬哲之, 小方頼昌, 伊藤公

一, 吉江弘正 : 日本歯周病学会会員のインプラント治療に関するアンケート調査報告. 日歯周誌 **54**, 265-276, 2012

- 13) Kato H, Okunaka T and Shimatani H : Photodynamic therapy for early stage bronchogenic carcinoma. *J Clin Laser Med Surg* **14**, 235-238, 1996
- 14) Dougherty YJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbek M, Moan J and Peng Q : Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst* **90**, 889-905, 1998
- 15) Wilson M, Dobson J and Harvey W : Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. *Curr Microbiol* **25**, 77-81, 1992
- 16) Haas R, Dörtbudak O, Mensdorff-Pouilly N and Mailath G : Elimination of bacteria on different implant surfaces through photosensitization and soft laser. An in vitro study. *Clin Oral Implants Res* **8**, 249-254, 1997
- 17) Ochsner M : Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *J Photochem Photobiol B* **39**, 1-18, 1997
- 18) van Winkelhoff AJ, Rams TE and Slots J : Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Periodontol 2000* **10**, 45-78, 1996
- 19) Shibli JA, Martins MC, Theodoro LH, Lotufo RF, Garcia VG and Marcantonio EJ : Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs. *J Oral Sci* **45**, 17-23, 2003

- 20) Haas R, Baron M, Dörtbudak O and Watzek G : Lethal photosensitization, autogenous bone, and e-PTFE membrane for the treatment of peri-implantitis: preliminary results. *Int J Oral Maxillofac Implants* **15**, 374-382, 2000
- 21) Mombelli A, van Oosten MAC, Schürch E and Lang NP : The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol* **2**, 145-151, 1987
- 22) Lindhe J and Meyle J : Group D of European Workshop on Periodontology. Peri-implant diseases : Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* **35**, 282-285, 2008
- 23) Yoshida A, Suzuki N, Nakano Y, Oho T, Kawada M and Koga T : Development of a 5' fluorogenic nuclease-based real-time PCR assay for quantitative detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Microbiol* **41**, 863-6, 2003
- 24) Yoshida A, Kawada M, Suzuki N, Nakano Y, Oho T, Saito T and Yamashita Y : TaqMan real-time polymerase chain reaction assay for the correlation of *Treponema denticola* numbers with the severity of periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* **19**, 196-200, 2004
- 25) Suzuki N, Yoshida A, Saito T, Kawada M and Nakano Y : Quantitative

- microbiological study of subgingival plaque by real-time PCR shows correlation between levels of *Tannerella forsythensis* and *Fusobacterium* spp. J Clin Microbiol **42**, 2255-2257, 2004
- 26) Nagashima S, Yoshida A, Suzuki N, Ansai T and Takehara T : Use of the genomic subtractive hybridization technique to develop a real-time PCR assay for quantitative detection of *Prevotella* spp. in oral biofilm samples J Clin Microbiol **43**, 2948-2951, 2005
- 27) 伊藤公一：抗菌療法に必要な細菌検査および歯周検査。 In：歯周病患者における抗菌療法の指針，日本歯周病学会編，医歯薬出版，東京，pp80，2010
- 28) Albrektsson T and Isidor F : Consensus report of session. In : Proceedings of the 1st European workshop on periodontology. Lang NP and Karring T, eds, Quintessence, London, pp365–369, 1994
- 29) Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljenberg B and Marinello C : Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. Clin Oral Implants Res **3**, 9–16, 1992
- 30) Ikeda H, Shiraiwa M, Yamaza T, Yoshinari M, Kido MA, Ayukawa Y, Inoue T, Koyano K and Tanaka T : Difference in penetration of horseradish peroxidase tracer as a foreign substance into the peri-implant or junctional epithelium of rat gingiva.

- Clin Oral Implants Res **13**, 243–251, 2002
- 31) Atsuta I, Yamaza T, Yoshinari M, Mino S, Goto T, Kido MA, Terada Y and Tanaka T : Changes in the distribution of laminin-5 during peri-implant epithelium formation after immediate titanium implantation in rats. *Biomaterials* **26**, 1751–1760, 2005
- 32) Hultin M, Gustafsson A, Hallstrom H, Johansson LA, Ekfeldt A and Klinge B : Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res* **13**, 349-358, 2002
- 33) Heitz-Mayfield LJ and Lang NP : Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. *Periodontol 2000* **53**, 167-181, 2010
- 34) van Winkelhoff AJ and Wolf JW : *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated peri-implantitis in an edentulous patient. A case report. *J Clin Periodontol* **27**, 531-535, 2000
- 35) Sato S, Kishida M and Ito K : The comparative effect of ultrasonic scalers on titanium surfaces: an in vitro study. *J Periodontol* **75**, 1269-1273, 2004
- 36) Speelman JA, Collaert B and Klinge B: Evaluation of different methods to clean titanium abutments. A scanning electron microscopic study. *Clin Oral Implants Res* **3**, 120-127, 1992

- 37) 織井弘道, 森谷良智, 難波幸一, 海老原直樹, 川本和弘, 伊藤公一, 村井
正大 : 種々の清掃法がチタンプレートの表面性状ならびに培養細胞の付着
数と形態に及ぼす影響. 日歯周誌 **39**, 495-502, 1997
- 38) Schou S, Holmstrup P, Jørgensen T, Skovgaard LT, Stoltze K, Hjørting-Hansen E
and Wenzel A : Implant surface preparation in the surgical treatment of
experimental peri-implantitis with autogenous bone graft and ePTFE membrane in
cynomolgus monkeys. Clin Oral Implants Res **14**, 412-422, 2003
- 39) 小野里元気, 田中真喜 : 歯周病急性発作の症状緩和. In: フォトダイナミック
セラピーを用いた”光殺菌”歯周治療入門, 吉野敏明編, 医学情報社,
東京, pp51-56, 2012
- 40) Bassetti M, Schär D, Wicki B, Eick S, Ramseier CA, Arweiler NB, Sculean A, and
Salvi GE : Anti-infective therapy of peri-implantitis with adjunctive local drug
delivery or photodynamic therapy: 12-month outcomes of a randomized controlled
clinical trial. Clin Oral Implants Res **25**, 279-287, 2013
- 41) Gollnick SO, Evans SS, Baumann H, Owczarczak B, Maier P, Vaughan L, Wang
WC, Unger E and Henderson BW : Role of cytokines in photodynamic therapy-
induced local and systemic inflammation. British J Cancer **88**, 1772-1779, 2003

- 42) Mombelli A : Prevention and therapy of peri-implant infections. In :
Proceedings of the 3rd European Workshop on Periodontology, Lang NP, Karring
T and Lindhe J, eds, Quintessence, Berlin, pp281-303, 1999
- 43) 寺西麻里奈, 谷田部一大, 天野 滋, 中島明敏, 権 海尚, 鈴木 充文, 辰巳
順一, 林 丈一朗, 申 基喆 : 抗菌光線力学療法によるインプラント体表面
に付着した歯周病原細菌に対する殺菌効果に関する in vitro 研究. 明海歯科
医学 44, 50-61, 2015
- 44) Marotti J, Tortamano P, Cai S, Ribeiro MS, Franco JE and de Campos TT :
Decontamination of dental implant surfaces by means of photodynamic therapy.
Lasers Med Sci 28, 303-309, 2013
- 45) Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I and Haffajee A :
Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine' peri-implant pockets. Clin
Oral Implants Res 17, 25-37, 2006
- 46) Konopka K and Goslinski T : Photodynamic therapy in dentistry. J Dent Res 86,
694-707, 2007
- 47) Chung DM, Oh TJ, Shotwell JL, Misch CE and Wang HL : Significance of
keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces. J
Periodontol 77, 1410-1420, 2006

48) Deppe H, Mucke T, Wagenpfeil S, Kesting M and Sculean A : Nonsurgical

antimicrobial photodynamic therapy in moderate vs severe peri-implant defects: A

clinical pilot study. Quintessence Int 44, 609-618, 2013

表

Table 1 Occurrence of selected bacterial species before and after a-PDT.

	Before a-PDT			After a-PDT			Reduction rate (%)
	Bacteria counts (cells)	Ratio vs total bacteria cells (%)	Number of detection	Bacteria counts (cells)	Ratio vs total bacteria cells (%)	Number of patients that decreased	
Total bacterial cells	$2.8 \pm 3.3 (x10^6)$	—	17	$2.1 \pm 3.9 (x10^6)$	—	12	71
<i>P. gingivalis</i>	$1.3 \pm 3.3 (x10^5)$	14.7 ± 25.7	14	$1.9 \pm 7.2 (x10^5)$	4.0 ± 5.9	11	79
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	$5.9 \pm 2.2 (x10^3)$	2.7 ± 3.2	3	$1.4 \pm 3.6 (x10^2)$	0.1 ± 0.1	2	50
<i>T. denticola</i>	$4.2 \pm 1.1 (x10^4)$	1.2 ± 1.2	11	$5.0 \pm 1.7 (x10^4)$	0.6 ± 0.7	6	55
<i>T. forsythia</i>	$1.6 \pm 3.8 (x10^4)$	1.6 ± 2.7	16	$3.1 \pm 1.1 (x10^4)$	0.4 ± 0.6	10	63
<i>P. intermedia</i>	$1.0 \pm 4.3 (x10^5)$	4.3 ± 5.7	6	$7.8 \pm 2.0 (x10^3)$	0.7 ± 1.4	3	43
Red complex	$1.9 \pm 4.8 (x10^5)$	12.7 ± 25.7	16	$2.7 \pm 1.0 (x10^5)$	4.4 ± 7.0	12	75

Reduction rate were calculated by the number of patients that decreased / number of detection. Ratio vs total bacteria cells (%) were calculated by bacterial counts of each detected bacteria samples / total bacteria cells which from each detected bacteria samples.

Figure legends

Fig. 1 The diode laser “Periowave” for a-PDT.

A: Front view. **B:** Side view.

Fig. 2 Clinical parameters of peri-implantitis patients before and after a-PDT.

Thirty-three peri-implantitis sites from 17 patients were evaluated for PAL (A), mBI (B) and BOP (C). **A:** Change of the probing attachment level (PAL). There was no difference between before and after a-PDT. **B:** Change of the number of each modified Sulcus Breeding Index (mBI). There was significant difference between before and after (* $p < 0.01$, χ^2 - test). **C:** Change of the number of positive and/or negative Breeding on Probing (BOP).

Fig. 3 Change before and after a-PDT of periodontopathic bacteria.

P. gingivalis and red complex was significant difference between before and after a-PDT (* $p < 0.05$, Wilcoxon rank sum test). *P. gingivalis* was detected in 14 patients and red complex was detected in 16 patients (n=17).

Fig. 4 PAL of mild and severe peri-implantitis sites before and after a-PDT.

Change of the probing attachment level (PAL). There was no difference between before and after a-PDT.

Fig.5 The ratio of mBI level of mild and severe peri-implantitis sites before and after a-PDT.

Change of the number of each modified Sulcus Breeding Index (mBI). There was significant difference between before and after (* $p < 0.01$, χ^2 - test).

Fig.6 BOP of mild and severe peri-implantitis sites before and after a-PDT.

Change of the number of positive and/or negative Breeding on Probing (BOP).

Number of BOP positive sites were decreased after a-PDT on mild and severe peri-implantitis.

Fig. 7 Change of periodontopathic bacteria on mild peri-implantitis sites before and after a-PDT.

P. gingivalis and red complex was significant difference between before and after a-PDT (* $p < 0.05$, Wilcoxon rank sum test). *P.gingivalis* and red complex were detected

in 8 patients (n=8).

Fig. 8 Change of periodontopathic bacteria on severe peri-implantitis sites before and after a-PDT.

P. gingivalis, *P.intermedia* and red complex was significant difference between before and after a-PDT (* $p < 0.05$, Wilcoxon rank sum test). *P.gingivalis* and red complex were detected in 9 patients (n=9).

Fig 1

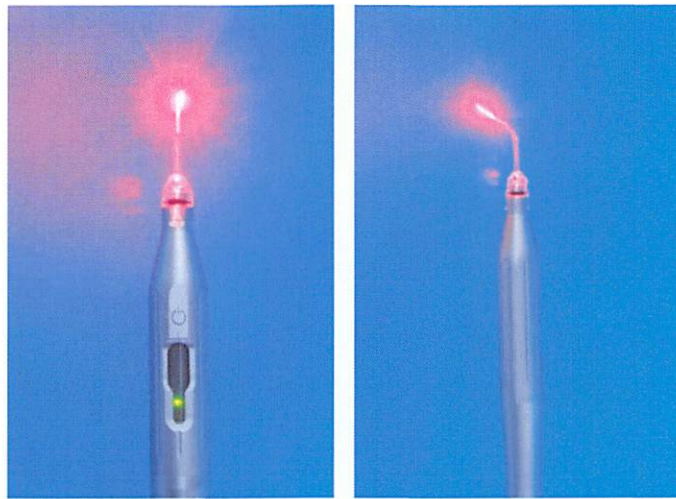


Fig 2-A

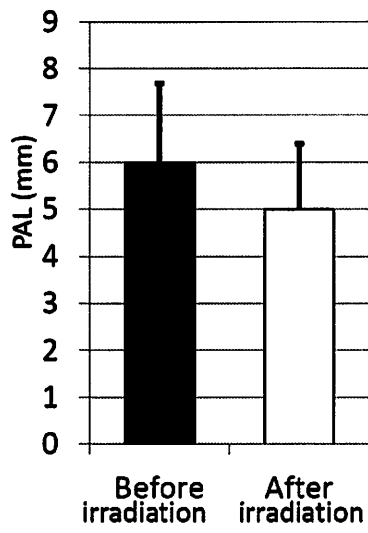


Fig 2-B

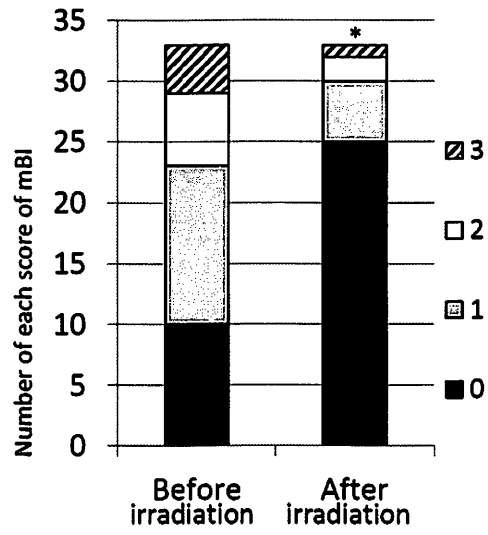


Fig 2-C

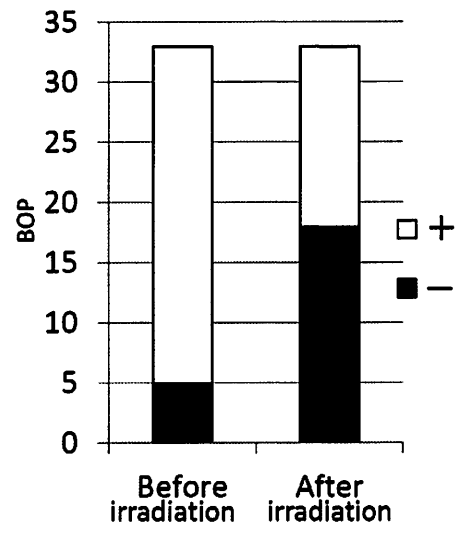


Fig 3

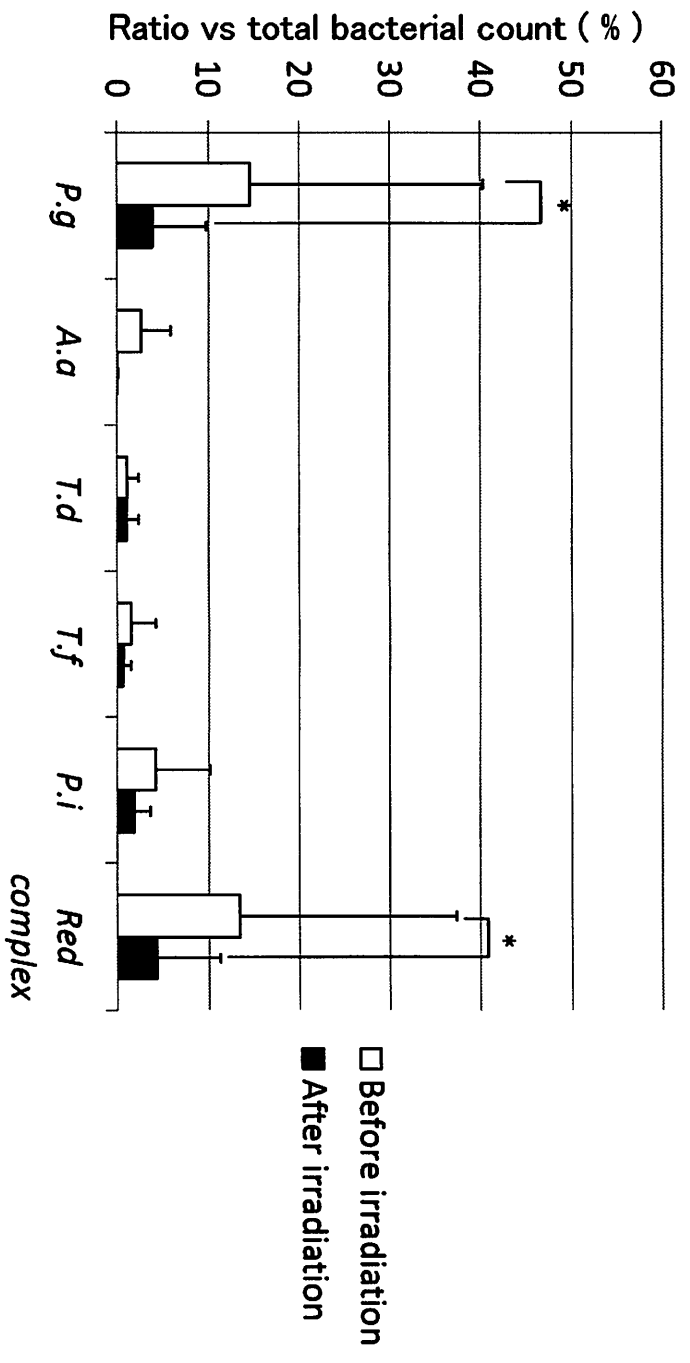


Fig 4

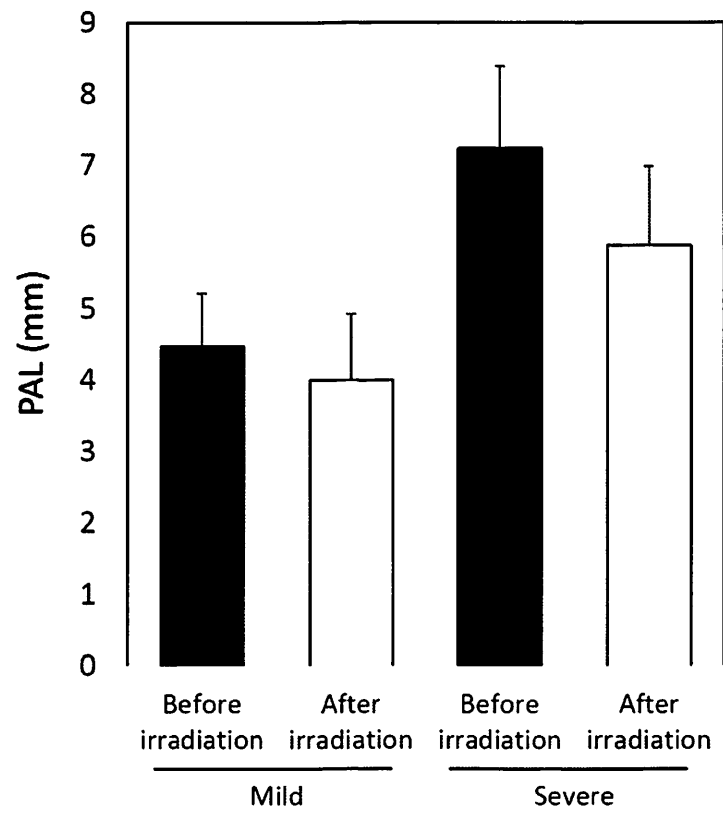


Fig 5

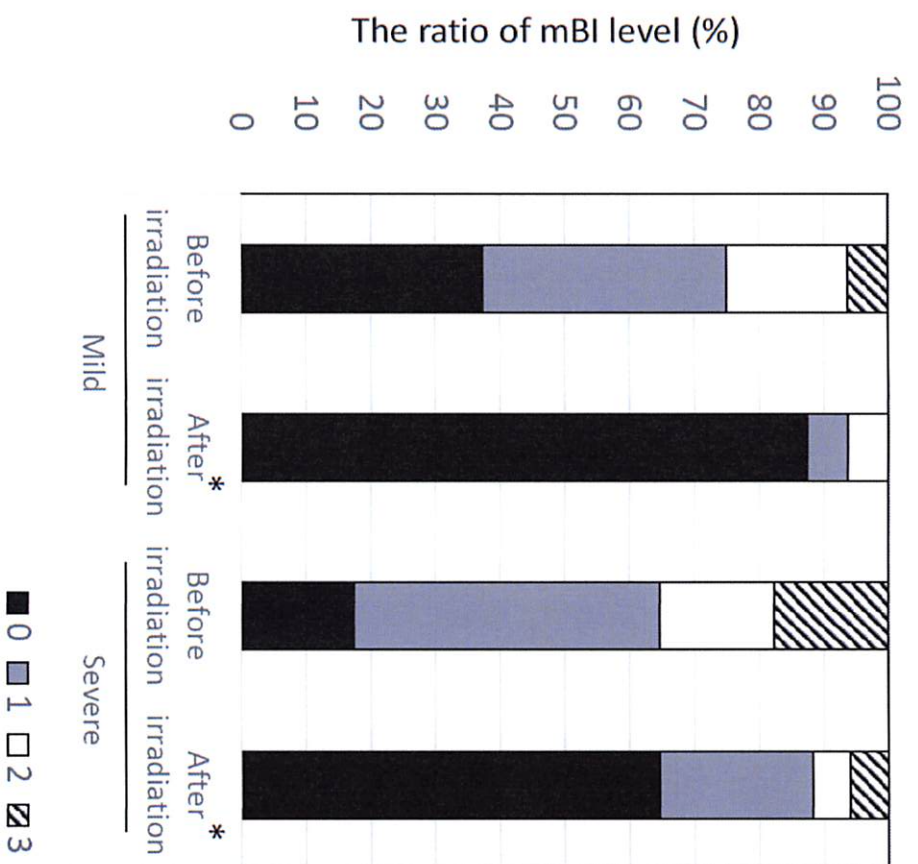


Fig 6

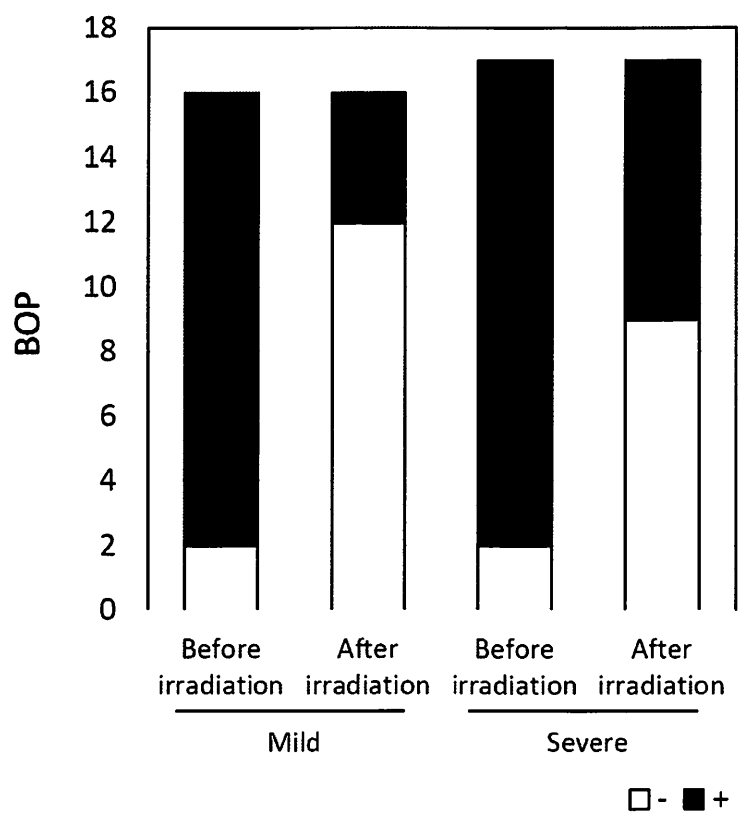


Fig 7

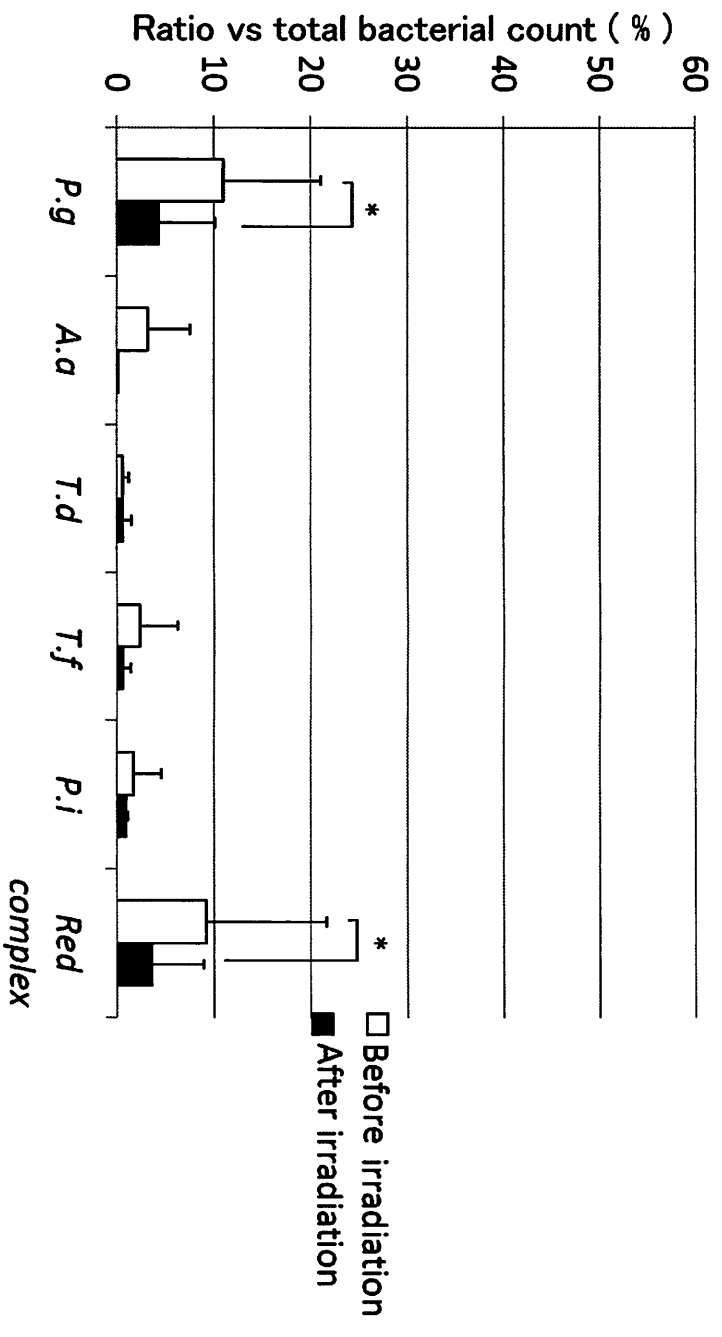


Fig 8

