

歯周病の臨床所見と口臭の関係および紫外線励起酸素種と紫外線による殺菌システムの効果の検討

日本大学大学院松戸歯学研究科歯学専攻

若林 健史

(指導: 小方 頼昌 教授)

要旨

日本大学松戸歯学部付属病院歯周科で慢性歯周炎軽度と診断された87名(男性56名、女性31名、平均年齢45.2歳)の患者を対象として、初診時の歯周病の臨床所見と口臭測定器を用いた口臭の測定値との関係について解析を行った。さらに、87名の患者の中で、歯周基本治療を直ちに開始した38名の患者について、歯周基本治療前後の臨床所見と口臭測定値の改善度を比較検討した。

口臭は、口臭測定器ブレストロンを用いて歯周基本治療前後に測定した。歯周病の臨床所見は、プロービングポケット深さ(Probing pocket depth; PD)、Bleeding on probing (BOP)、歯の動揺度、歯肉退縮量、Plaque control record (PCR) および舌苔の付着量について歯周基本治療前後に測定した。

初診時の歯周病の臨床所見と口臭測定値との関係については、BOPと口臭測定値($r=0.52$, $p<0.01$) およびPCRと口臭測定値($r=0.69$, $p<0.01$)との間に有意な相関が認められた。舌苔の付着を認めた患者が少なかったため、舌苔と口臭との関連性は特定できなかった。歯周基本治療により口臭は減少し、その減少傾向はBOPおよびPCR値の改善と一致していた。以上の結果から、口臭はBOPおよびPCR値と連動して改善し、口臭測定値を利用して口腔衛生指導を行うことは、臨床におけるモチベーション向上に有用であると考えられた。

次に、紫外線励起酸素種(O*)と紫外線(UV)を用いた殺菌システムの効果に関する検討を行った。歯周治療で機械的歯面清掃に頻用されるラバーカップに大腸菌またはカンジダ菌をそれぞれ植菌し、紫外線励起酸素のみ(O*)、紫外線のみ(UV)、紫外線励起酸素と紫外線(O*+UV)による殺菌を5分および25分間行い、コントロール(紫外線励起酸素と紫外線なし)と比較して残存菌数を10倍希釈法およびATP法にて評価した。上記4つの群で比較した結果、両菌群でO*+UV、UV、O*、コントロールの順に強い殺菌効果を示した。また、O*+UVとUVを比較した結果、有意な紫外線励起酸素の付加的殺菌効果を認めた。

以上の結果から、紫外線励起酸素と紫外線の両者による殺菌効果は、ラバーカップのような非耐熱性および立体構造の歯科用器具の殺菌に有用であると考えられた。

緒言

臭いに対する意識が高まるとともに、口臭に対する認識が強まり、多くの媒体を通して口臭に関する情報が紹介されるようになった。口臭の原因として、口腔内疾患または全身疾患由来のものが報告されているが¹⁻⁵⁾、細菌の産生物や宿主の分解産物等、う蝕や歯周病に起因するものが多い^{4,6,7)}。口臭の強さは、歯周組織の炎症や歯周病の進行度と必ずしも相関せず、舌苔や唾液の性状に影響されるという報告があるが^{3,8-10)}、臨床的には一定の見解が得られていない。従来の口臭測定は、ガスクロマトグラフィー等の装置が必要であり、チェアサイドで簡便に測定することは困難であった。また、官能試験は検査者による影響が大きいため、客観的な口臭測定は、複数の測定法を組み合わせる必要性があった^{5,11,12)}。近年、簡易口臭測定器が開発され、日常臨床での簡便な口臭測定が可能となった^{2,13-15)}。そこで、口臭測定が、歯周治療の受診動機として一指標となるかについて検討するため、歯周病検査の所見と口臭の関連性および歯周基本治療前後の臨床所見と口臭の関連について解析を行った。

歯科治療を安心・安全に行なうためには、徹底した安全管理のもと、歯科治療器材の劣化が少ない滅菌方法を選択する必要がある。歯科領域では、高圧蒸気滅菌、紫外線滅菌、プラズマ滅菌および薬剤を使用した滅菌が主流であるが、材質の劣化、器機への薬液残留、廃液の処理等のデメリットがある。高圧蒸気滅菌は、普遍的で幅広く滅菌に用いられるが、滅菌時間が比較的長く、耐熱性でないプラスチック材料等には使用できない。紫外線滅菌とプラズマ滅菌では、紫外線およびプラズマ線が届かない部分への滅菌作用が無く、適応範囲が限られることから、励起酸素と紫外線滅菌の両者による滅菌方法の有用性について解析を行った。

アクティブドライ（岩崎電気）は、励起酸素と紫外線の両者による除染、消毒効果を

特徴とした乾式の洗浄器であり、従来の滅菌方法の欠点を補えると共に、熱に弱い治療器材に対応できる器機である。励起酸素および紫外線の殺菌効果は1960年代前半から報告されているが^{16,17)}、歯科医療器材への殺菌効果の報告はほとんどなく、励起酸素を応用した義歯の殺菌効果に関する報告が認められるのみである¹⁸⁾。

励起酸素と紫外線の両者による歯科補綴物の殺菌効果を評価した報告があるが^{19,20)}、様々な材質や構造の歯科治療器材へ殺菌評価に関する報告は無い。殺菌および消毒効果の評価方法として、希釈法による菌数評価が一般的であり、生化学的評価法による報告はほとんど無い。生物の個体成分の検出方法としてアデノシン三リン酸（ATP）活性を測定する方法が、体液および食物残渣中の微量な微生物の検出に応用されており、さらにホタルの蛍光酵素であるルシフェラーゼとその基質のルシフェリンを利用してATP活性を高感度に検出することが可能である²¹⁾。

細菌は、グラム陽性菌と陰性菌に大別される。グラム陽性菌の多くは弱毒菌で、皮膚や土壌中に存在し、健康人に感染症を引き起こすことはほとんど無いが、免疫不全や易感染性患者において、重篤な感染症を引き起こす場合がある。口腔内のグラム陽性菌は、歯肉縁上プラーク中に存在するう蝕病原菌のStreptococcus属が主である。グラム陰性菌と比べてグラム陽性菌は厚いペプチドグリカン層に覆われており、細胞壁は物理的作用には強いが、化学的作用に弱いのが特徴である²²⁾。グラム陰性菌は、細胞壁の外側に外膜を持ち、化学物質から守られるが、グラム陽性菌と比べて薄いペプチドグリカン層で覆われるため、物理的および湿度的要因には弱い²³⁾。主なグラム陰性菌は、緑膿菌などのブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌と大腸菌、セラチアなどの腸内細菌科細菌で、湿潤環境や皮膚および腸管内に存在する。歯肉縁下プラーク中の歯周病原菌である*Porphyromonas gingivalis*がこれに属する²⁴⁾。医療関連感染対策においては、環境に由来する外因性感染と患者自身の常在菌による内因性感染の両方が問題となるため、院内機器の除染、殺菌効果の指標として、真菌およびグラム陰性菌が広く使用されている。そのため、グラム陽性菌は今回の励起酸素と紫外線の殺菌効果を評価する対象菌としなかった。

本研究では、高圧蒸気滅菌や薬剤使用による殺菌に適さない歯科治療器材であるラバーカップを用い、ラバー表面に植菌した大腸菌およびカンジダ菌に対する励起酸素と紫外線の殺菌効果を、希釈法による菌数評価法と ATP 活性を測定することで評価を行った。

材料および方法

1. 歯周病検査の所見と口臭との関係

日本大学松戸歯学部附属病院歯周科を受診し、本研究の主旨に同意が得られた患者 87 名（女性 56 名、男性 31 名、平均年齢 45.2 歳）を対象とした。なお、本研究は日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認を得た（承認番号 EC04-026）。患者には研究の目的を十分に説明し、歯周病検査と口臭測定を行った。歯周病検査の項目は、歯の動揺度（ミラーの分類²⁵⁾）、プロービングポケット深さ（PD）、bleeding on probing（BOP）、Plaque Control Record（PCR）²⁶⁾、歯肉退縮量および舌苔付着量である。舌苔付着量は、小島の方法²⁷⁾に準じ、以下に示す 0~4 までの 5 段階で評価した。舌苔を認めないを（0）、舌苔付着範囲が舌後方 1/3 程度の薄い舌苔を（1）、舌苔付着範囲が舌後方 2/3 程度の薄い舌苔あるいは舌後方 1/3 程度の厚い舌苔を（2）、舌苔付着範囲が舌後方 2/3 以上の薄い舌苔あるいは舌後方 2/3 程度の厚い舌苔を（3）、舌苔付着範囲が舌後方 2/3 以上の厚い舌苔を（4）とした。口臭の測定は、ブレストロン（ヨシダ、東京）を用い、専用のマウスピースを口腔内に挿入し、鼻呼吸の状態です 45 秒間口腔内の呼気を自動吸引し測定した。測定により得られた値（ブレストロン値）を口臭として解析に用いた。なお、患者には測定日の前日および当日の臭いの強い食品の摂取および検査 2 時間前からの歯磨き、飲食、喫煙を禁止した。

2. 歯周基本治療前後の口臭の変化

上記の対象患者のうち抜歯等の観血処置が予定されておらず、直ちに歯周基本治療を開始できる患者 38 名（女性 29 名、男性 9 名、平均年齢 48.6 歳）を対象とした。各被験者について歯周基本治療としてブラッシング指導、スケーリングおよびルートプレーニ

ングを行った。歯周基本治療前および終了後に歯周病検査を行い、歯周組織の状態について評価した。また、口臭測定はブレストロンを用いて歯周基本治療前後で測定を行い評価した。

3. 殺菌機器

本研究で使用した殺菌機器（アクティブドライ；岩崎電気、東京）は、装置内部に励起酸素を発生させる励起酸素発生用ランプ（励起酸素ランプ）4W；1灯と表面殺菌の紫外線（UV）ランプ（励起酸素分解用ランプ）6W；2灯を有し、上部にクロスフローファンを配置して内部の循環を可能とした機器である。

4. 細菌および殺菌対象物

使用細菌として、大腸菌 (*Escherichia coli*:NBRC 3972) とカンジダ菌 (*Candida albicans*: ATCC 18804) を選択した。大腸菌は、殺菌効果の指標として広く使用されているグラム陰性桿菌であり、カンジダ菌は、真正細菌と比較して耐久性のある真菌であるため、殺菌評価に広く使用される²⁸⁾。大腸菌は、Lysogenic Broth (LB) 培地 (1 ml) 中で 37°C、20 時間、振盪培養後、大腸菌選択寒天培地 (EZ2C 寒天培地) に播種し、37°C、24 時間培養した。カンジダ菌は、Brain Heart Infusion (BHI) 液体培地 (1 ml) 中で 37°C、20 時間、振盪培養後、カンジダ菌選択寒天培地 (コーンミール寒天培地) に播種し、37°C、24 時間培養した。その後、大腸菌のコロニーは LB 培地 (1 ml) 中で 37°C、20 時間、振盪培養し、菌培養液として実験に使用した。カンジダ菌は BHI 液体培地 (1 ml) を用いて同条件にて菌培養液を作製し、実験に使用した。殺菌対象物として、ラバーカップ (メルサージュカップ、松風) を使用した。

5. 殺菌効果の評価

本研究で使用した殺菌機器は、励起酸素ランプおよび UV ランプの着脱が可能であり、励起酸素および紫外線を単独でそれぞれ使用することができる。そこで、励起酸素と紫外線の単独および両者の殺菌効果を検討する目的で、コントロール（無励起酸素、無紫外線；Cont.）、励起酸素のみ（O*）、紫外線のみ（UV）と励起酸素＋紫外線（O*＋UV）4つの方法で殺菌効果を評価した（表6）。

まず初めに、菌数評価として用いる 10 倍希釈法と ATP 法による評価の相関関係を確認するため、大腸菌数およびカンジダ菌と ATP 活性との検量線を作成した。10 倍希釈法により 100 μ l 菌培養液を 900 μ l リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) にて希釈し、 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 希釈菌液を作製した。 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 各希釈菌液をそれぞれ 20 μ l ずつ各寒天培地上の各 3 部位に播種し、37°C、20 時間培養した。その後、菌希釈液を播種した 3 部位のコロニー数の平均値を算出し、計測可能な希釈倍率のコロニー数から逆算して、4 サンプルの平均を菌数 (CFU/ml) とした。ATP 活性の測定にはルシフェール HS キット (キッコーマンバイオケミファ株式会社, Cat No. 60315) を使用した。10 倍希釈法で用いた 800 μ l の各 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 希釈菌液をサンプルとして用いた。80 μ l の ATP 消去試薬 (ATP 分解酵素) を加えて攪拌後、80 μ l をルミチューブに移して室温、30 分間インキュベートした。反応後のルミチューブに 80 μ l の ATP 抽出試薬を添加し、20 秒後に 80 μ l の発光試薬を添加して攪拌した。攪拌後 10 秒以内に発光量 (RLU : Relative Light Unit) をルミテスター (キッコーマンバイオケミファ株式会社) にて測定した。

励起酸素および紫外線の殺菌効果を調べるために、検量線作成で使用した大腸菌およびカンジダ菌をラバーカップの内面に植菌した。植菌は、1 ml の菌液を攪拌後、ピペットマンで菌液 5 μ l を採取し、直接ラバーカップ内面に滴下した。表面張力により塗布後の菌液の厚さと量に誤差が大きくなるように、ラバーカップ内面の底まで菌液を落とし、クリーンベンチ内にて 10 分間室温で乾燥させた。植菌後のラバーカップは、各殺菌方法に従って (表 6)、5 分および 25 分間殺菌操作を行った。殺菌後、2 ml の PBS に浸し、超音波処理 (100W, 0.5 秒) を 2 分間、氷上で行った。PBS 中の菌数を 10 倍希釈法および ATP 活性の測定を行うために、検量線作成時と同様に、 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 の菌希釈液を作成し、LB 寒天培地を用いて菌数評価を行った。また、ATP 活性の測定サンプルとして超音波処理した PBS 菌液を使用した。

各殺菌方法の菌数評価と ATP 活性の測定結果には、図 4、5 および 6 においては 8 回分の平均値、図 7 および 8 においては 6 回分の平均値を使用した。

6. 統計分析

相関関係は、spearman の順位相関係数を算定した。歯周基本治療前後の歯周精密検査の所見および口臭の変化は student-t 検定を用いた。10 倍希釈法による菌数評価と ATP 法の相関関係の検定は、ピアソン係数の算出を使用した。各殺菌効果の評価は、多重比較検定 (Tukey-kramer 法) を行った。

結 果

1. 歯周組織検査の所見と口臭の関係について

対象患者 87 名の平均 PD 値は 3.3 ± 0.5 mm、BOP $33.4 \pm 12.0\%$ 、PCR 値 $43.8 \pm 12.3\%$ であった。舌苔の付着量は 0.12 ± 0.39 であり、多くの被験者で舌苔の付着が認められなかった。ブレストロン値の平均は 724 ± 242.5 ppb であり、口臭を認知できるレベルにあるものが多かった (表 1)。臨床症状とブレストロン値の関係について表 2 に示した。相関係数は、BOP で 0.52 ($p < 0.01$)、PCR では 0.69 ($p < 0.01$) であり、いずれも有意な相関が認められた。一方、PD、舌苔付着量、歯の動揺度および歯肉退縮量とブレストロン値との相関係数は 0.16、0.29、0.04 および 0.01 であり、有意な相関は認められなかった。

2. 歯周基本治療前後による口臭の変化

歯周基本治療前後での被験者の臨床所見と口臭の変化を表 3 に示した。PD、BOP および PCR は、歯周基本治療前後で改善が認められた。ブレストロン値は、治療前の値 671 ± 183.6 ppb から 326 ± 143.2 ppb へと有意に減少した。歯周基本治療前後におけるブレストロン値と診査項目 (PD、BOP、PCR) との相関関係を表 4 に示した。治療前には、BOP および PCR とブレストロン値の相関は 0.69 ($p < 0.01$) および 0.72 ($p < 0.01$) で、有意な相関が認められた。治療後には、BOP で 0.37 ($p < 0.05$) と相関を認めたが、治療前に比較して相関係数は低下した。

歯周基本治療による臨床所見と口臭 (ブレストロン値) の改善度に注目し、それぞれの診査項目が治療前後にどの程度改善したのかを、改善率 = (治療前の値 - 治療後の値)

／治療前の値) で表し、口臭の改善率と PD、BOP、PCR の改善率との関係を図 1 から図 3 に示した。改善率 0 は治療前後で改善が認められなかったことを示し、-0.1 は治療後に治療前よりも 10%悪化したことを示す。口臭と PD 改善率の関係は、図 1 に示すように 38 症例中、両方で改善を認めたものが 30 症例であり、PD の改善を認めたが口臭が悪化した症例は 6 症例であった。口臭と BOP 改善率の関係は、32 症例で BOP と口臭の両者に改善が認められ、6 症例では BOP が改善したが、口臭は悪化した (図 2)。口臭と PCR 改善率の関係は、32 症例で PCR と口臭の両者に改善が認められ、1 症例で PCR の悪化に一致して口臭が悪化した。一方、PCR が改善したにも関わらず、口臭が悪化した症例が 5 症例認められた (図 3)。

3. 菌数と ATP 活性の相関関係について

10 倍希釈法による菌数評価と ATP 活性値の相関関係を調べた結果、大腸菌の場合、ピアソン係数は 0.9989 (N=24)、カンジダ菌を使用した場合は 0.9941 (N=24) で、高い相関関係を示した。また、菌数評価と ATP 活性値の検量線は比例関係に近い分布を示した (図 4)。

4. ラバーカップへの植菌条件の決定について

ラバーカップへの植菌条件を決定するために、植菌乾燥時間と大腸菌数を 10 倍希釈法により評価した。その結果、20 分以上の乾燥時間で菌数の減少が大きく有意な差を認めた (図 5)。このことから、植菌後の乾燥時間の設定を 10 分として以下の殺菌効果を検討した。カンジダ菌に関しては、大腸菌よりも乾燥に強いため²⁶⁾、同実験は行わなかった。

5. 殺菌方法および殺菌時間の影響について

本研究で使用した殺菌機器 (アクティブドライ) の概要を表 5 に示した。異なる殺菌方法が菌数に与える影響を調べるために、4 つの殺菌方法 (表 6) を用いて、10 倍希釈法による菌数評価および ATP 活性値の測定を用いて評価した。10 倍希釈法による菌数評価の結果、大腸菌およびカンジダ菌ともに、O*+UV、UV、O*の順に高い殺菌効果を示した。さらに、殺菌 25 分値では、どの殺菌方法でも殺菌 5 分値よりも高い殺菌効果を示した。

示し、大腸菌およびカンジダ菌ともに、UV と O*+UV による殺菌効果が特に高かった。しかし、カンジダ菌の 5 分間の O*殺菌においては Cont と比較して有意な差を認めなかった (図 6C および D)。

ATP 活性値による評価の結果、10 倍希釈法による菌数評価の結果と同様に、殺菌 25 分値では、どの殺菌方法でも殺菌 5 分値よりも高い殺菌効果を示した。しかし、大腸菌の殺菌 5 分値の ATP 活性値の評価では、Cont と比較してどの殺菌方法においても有意に殺菌効果を示したが、カンジダ菌の ATP 活性値の評価では、Cont と比較してどの殺菌方法においても有意に殺菌効果を示さなかった。また、大腸菌およびカンジダ菌ともに、殺菌 5 分値において、O*+UV, UV および O*間での殺菌効果にほとんど差は無かった。(図 6B および D)。

6. 励起酸素の付加的殺菌効果について

O*の付加的殺菌効果について検索するために、O*+UV および UV の殺菌条件による菌数評価および ATP 活性の変化を統計処理した。その結果、大腸菌およびカンジダ菌ともに、O*+UV のほうが UV 単独よりも有意に高い殺菌効果を示した (図 7, 8)。

考 察

口臭の主な原因の 1 つとして、歯周病と舌苔が知られている^{1,4,7)}。歯周病患者の呼気に含まれる揮発性硫化物の濃度は、健常者の 8 倍程度の高濃度で検出される²⁹⁾。また、歯周病患者では、舌苔の量が健常者の約 4 倍程度多く認められることが報告されている⁷⁾。歯周病原菌の産生物が口臭に関与することから、歯周ポケットの深さよりも歯周ポケットの活動度が口臭に影響すると考えられるが³⁰⁾、口臭と歯周病との間に有意な相関はないとする研究³¹⁾もあり、口臭と歯周病との関連性については不明な点が多い。

本研究の対象患者 87 名の平均 PD 値は 3.3 ± 0.5 mm、BOP は $33.4 \pm 12.0\%$ 、PCR 値は $43.8 \pm 12.3\%$ であった。以上の値から、被験者は、多くの部位に歯肉の炎症が残存し、口腔衛生状態は不良であった。舌苔の付着量は 0.12 ± 0.39 と低値であったが、プレストロ

ン値が 724 ± 242.5 ppb であったことから、口臭として認知されるレベルであった。口臭と舌苔付着量の間に関連（相関係数 0.29）は無く、今回の被験者では、舌苔と口臭の関連を見出すことはできなかった。一方、臨床所見と口臭の関係について相関係数により評価した結果、BOP は 0.52 ($p < 0.01$)、PCR は 0.69 ($p < 0.01$) と高値を示したことから、プロービング時の出血およびプラークの付着状態と口臭の関連性が高いと考えられた。

本研究で使用したブレストロンは、半導体式ガスセンサーを使用した簡易型の口臭測定装置で、口臭の主な原因とされる硫化水素を標準ガスとして調整されており、揮発性硫黄化合物 (Volatile sulfur compounds 以下 VSC) 総量の定量が可能である¹³⁾。また、活性炭フィルターを使用することにより、食事や歯磨剤等に起因する臭気の影響を受けにくい。岩倉ら¹³⁾は、ブレストロンが官能試験に対して相関係数 0.62、ガスクロマトグラフィーに対しては相関係数 0.8 と、高い相関を示すことを報告した。安川ら⁴⁾は、ブレストロン値は、官能試験およびガスクロマトグラフィーに加え、ハリメーター値とも相関（相関係数 0.64）が高いことから、臨床での有用性を示した。一方、口臭は VSC 以外の臭気も含むため、ブレストロンのみで口臭の程度を判定することの危険性についても考察しており、官能試験との併用を推奨している⁴⁾。本研究は、ブレストロンを使用して口臭測定を行い、本機器が、歯周基本治療の動機付けに簡便に使用できるかを検討することを目的とした。

上記の 87 名のうち、直ちに歯周基本治療を開始した被験者 38 名に対して、歯周基本治療前後における臨床所見の変化と口臭の関係について検討を行った。歯周基本治療後、平均 PD 値で 0.7 mm, BOP で 30.5%, PCR で 18.3%の改善が認められた。その際のブレストロン値も 345 ppb 減少し、ブレストロンの判定基準による評価では、**moderate** から **mild** に改善した。以上の結果から、歯周基本治療による臨床症状の改善に伴い、口臭が軽減したと考えられた。

口臭とプラークの関連性を示す報告¹⁰⁾と関連しないとする報告⁸⁾が存在し、口臭への細菌の関与については、舌後方部に残余する細菌の腐敗作用が主であり、歯周ポケット内の細菌は口臭発生の主な原因ではないとの報告^{8,32)}があることから、一定の見解が得

られていない。本研究の結果、プラークの付着量およびBOPを判定基準とした歯周ポケット内の炎症と口臭が関連することが示された。一方、プラーク中の揮発性硫黄化合物の量は微量であるとの報告¹⁰⁾があり、プラークの付着量が直接的に口臭の強さに関与しているとは考えにくい。以上の結果から、プラークの蓄積に伴って歯肉の炎症が進行し、両者が相互作用して口臭に関与する可能性が考えられた。

口臭の改善率と歯周病検査結果の改善率との関連性については、38症例中口臭とPDの両者の改善は30症例、口臭とBOPでの両者の改善は32症例、口臭とPCRの両者での改善は32症例で認められた。このことから歯周治療の効果を説明する際に、比較的患者に分かりやすい口臭の改善を示すことが多くの症例で可能であることが示された。

歯周組織の状態に関わらず口臭発生にもっとも関与している原因は舌苔であることが報告されている^{2,3,31)}。また、舌苔の重量ではなく、舌苔を構成する細菌叢の違いが重要であるとする報告⁸⁾もある。本研究では、舌苔を認めた被験者は僅かであり、解析の結果、口臭は舌苔によるものではないと考えられた。

本研究の結果から、歯周基本治療により歯周組織の炎症が改善されると、口臭測定値が低下することが示された。口臭を含めた口腔の状態に対する意識を向上させることで、歯周病治療への動機付けのきっかけになると考えられることから、臨床におけるモチベーションを向上させるために、口臭測定器を応用できる可能性が考えられた。

次の研究では、励起酸素および紫外線が、ラバーカップ上の大腸菌とカンジダ菌に対してどの程度の殺菌効果を有するかを、10倍希釈法による菌数評価とATP活性値による2種類の方法で示した。従来広く用いられている10倍希釈法では検出できなかった大腸菌とカンジダ菌（UV単独およびO*+UV 殺菌25分値；図6A、O*+UV 殺菌25分値；図6C）が、ATP活性値による評価（UV単独およびO*+UV 殺菌25分値；図6B、O*+UV 殺菌25分値；図6D）で検出されたことから、ATP活性値による評価はより高感度であると考えられる。殺菌25分間の設定では、コントロールと比較してO*単独の殺菌効果が示されたが、UVの殺菌効果と比較するとその効果は低かった（図6）。しかし、O*+UVとUV単独での殺菌効果を比較すると、O*の付加効果が示された（図7、8）。10倍希釈法によ

菌数評価に比較して、ATP活性値による評価（図7, 8）の方が比較的差が小さかった原因は、ATP活性値による評価法は、極微量な生体物質である菌のATPを高感度に検出できたためと考えられる。菌数評価の際に菌数が少ない場合は、コロニー数のカウントが困難な場合もあることから、CFU値にバラつきが出やすいと考えられた。UVによる殺菌効果は、ラバーカップ内面の凹凸部に殺菌されずに残存した菌に影響されるが、UVの行き届かない部位の殺菌に、気体であるO^{*}の殺菌効果が有効であり、これがO^{*}の付加効果の大きな利点であると思われた。通常の臨床では、ラバーカップは使用後に洗浄を行うため、洗浄による除染効果が期待できる。しかし、今回の研究では、O^{*}とUVの殺菌効果を検討することが目的であり、殺菌前にある程度の菌数が必要であること、殺菌条件別の比較で有意差があったことから、ラバーカップ洗浄後の検討は実施しなかった。

紫外線の殺菌作用のメカニズムは不明な点が残るが、細菌のDNA吸光スペクトルと紫外線の殺菌波長の特性が関係していると考えられている。すなわち、細胞内DNAの光の吸収スペクトルと殺菌効果の波長は、260 nm付近の吸収帯で近似しており、紫外線照射の結果、細菌のDNAに作用して、DNAチミンダイマー形成と分解、水和現象などの光化学反応を引き起こし、その結果、細菌が死滅すると考えられる⁹⁾。吉野らは、大腸菌およびグラム陽性菌である黄色ブドウ球菌を用いて、99.9%不活化に必要な紫外線照射量を測定し、菌種による殺菌紫外線照射量を調べた。その結果、大腸菌は9.8 mJ/cm²、黄色ブドウ球菌は9.4 mJ/cm²であり、大腸菌の方が黄色ブドウ球菌よりわずかに強い紫外線抵抗性を示した³³⁾。今回の研究では、歯肉縁上プラークの大部分を構成するグラム陽性菌を殺菌効果評価の対象菌としなかったが、グラム陽性菌を主体とする歯肉縁上プラーク中の菌種を用いた場合でも、同様の知見が得られると考えられた。しかし、励起酸素単独によるグラム陽性菌の殺菌効果を評価した報告は無いことから、グラム陽性菌に対する殺菌効果の評価の再検討が必要であると思われる。

励起酸素は、生成種として酸素原子、励起酸素分子、オゾン等であることが知られている³⁴⁾。また、酸素ガスの放電や放射線反応により得られるが、生成した励起酸素自体は微生物や人体に有害とされている。しかし、酸素を基に得られることから、その扱い

は容易であり、短時間で有機物と反応して分解あるいは失活することで、残留性の心配が少ない特長を有しており、今回の研究で使用した殺菌方法は、安全でかつ容易に取り扱える利点があると思われた。また、薬液の残存や熱による材料の劣化に無関係であることから、残存により安全性が懸念される薬剤が含まれる器材や、非耐熱性で材料の劣化が懸念される器材等を殺菌対象物として使用できると考えられる。ラバーカップのゴムに対する紫外線およびオゾン（励起酸素を含む）の影響として、紫外線は化学変化（色に影響）、オゾンは酸化劣化（分子構造に影響）を引き起こす。今回使用したラバーカップは黒色であるため、紫外線の影響は少なく、オゾンの影響も飽和構造をもつラバーカップであることからほとんど無いと考えられた。

今後の展望として、他の除染、消毒方法の実施が困難あるいは煩雑である義歯洗浄用ブラシや歯ブラシ等、ラバーカップ以外の歯科治療器材を用いることで、励起酸素と紫外線による除染、消毒および殺菌可能な適応範囲を検索できると考えている。

文 献

1. 角田正健, 杉山利子, 富田幸代, 山田了, 清水和正, 前田裕一, 大澤謙二 (2006) 試作キャンディによる口臭抑制および舌苔除去効果. 日歯周誌, 48 :182-191.
2. 佐藤修一, 大森みさき, 村山恵子, 中村貴文, 斎藤光博, 今井理江, 堀玲子, 長谷川明 (1999) 揮発性硫黄化合物測定器ハリメーター®を用いた口臭測定の検討. 日歯周誌, 41 :195-200.
3. 大森みさき, 宮崎晶子, 佐藤治美, 片野志保, 田邊智子, 将月紀子, 今出昌一, 佐野晃 (2005) 舌苔を認めた者の口臭抑制に対する舌清掃の効果について. 日歯周誌, 47 :36-43.
4. 安川俊之, 大森みさき, 両角祐子, 馬場玲子, 五十嵐千里 (2005) ブレストロンを用いた口臭測定の検討. 日歯周誌, 47 :186-193.
5. 安野陽子, 岩倉政城, 島田義弘 (1989) 口臭を訴える患者の口内気体中揮発性硫黄化

- 合物と症状との関係. 口腔衛生会誌, 39 :633-674.
6. Yaegaki K, Sanada K (1992) Biochemical and clinical factors influencing oral malodor in periodontal patients. *J Periodontol*, 63 :783—789.
 7. 奈良文雄 (1977) 口臭と歯周病患者における口腔内所見との関係. 日口外誌, 19 : 100-108.
 8. Bosy A, Kulkarni GV, Rosenberg M, McCulloch CAG (1994) Relationship of oral malodor to periodontitis : evidence of independence in discrete subpopulations. *J Periodontol*, 65 :37-46.
 9. 斉藤幸枝, 大森みさき, 葛城啓彰 (2002) 生理的口臭の要因に関する研究. 日歯周誌, 44 :168-177.
 10. Tonzetich J, Kestenbaum RC (1969) Odor production by human salivary fractions and plaque. *Archs Oral Biol*, 14 :815-827.
 11. Tonzetich J, Ng SK (1976) Reduction of malodor by oral cleansing procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 42 :172-181.
 12. 八重垣健編著 (2000) 臨床家のための口臭治療のガイドライン, 第1版, クインテッセンス出版, 東京, 13-39.
 13. 岩倉政城, 針生ひろみ, 鷺尾純平, 志村匡代, 井川恭子, 鈴木健吾 (2002) 口臭測定器「ブレストロン」について. *Dental Review*, 62 :105-108.
 14. Rosenberg M, Kulkarni GV, Bosy A, McCulloch CAG (1991) Reproducibility and sensitivity of oral malodor measurements with a portable sulphide monitor. *J Dent Res*, 70 :1436-1440.
 15. Rosenberg M, Septon I, Eli I, Bar-Ness R, Gelernter I, Brenner S, Gabbay J (1991) Halitosis measurement by industrial sulphide monitor. *J Periodontol*, 62 :487-489.
 16. Val'vachev NI (1961) Hydrogen peroxide as a disinfectant in unventilated premises in the presence of humans. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*, 32 :1497-1503.
 17. Rau H (1960) A transportable apparatus for UV irradiation in final disinfection of patient rooms. *Dtsch Gesundheitsw*, 15 :148-151.
 18. Odagiri K, Sawada T, Hori N, Seimiya K, Otsuji T, Hamada N, Kimoto K (2012) Evaluation

- of denture base resin after disinfection method using reactive oxygen species (ROS). Dent Mater J, 443-448.
19. 山口佳男, 近藤健示, 新谷明喜 (2009) 歯科補綴物用消毒装置の開発—励起酸素を紫外線の併用による殺菌効果について, 日歯技工誌 30 :26-31.
 20. 山口佳男 (2010) 歯科技工における殺菌・滅菌・消毒の最新セオリー—励起酸素活用の光応用型乾式除染洗浄機器の特長を交えて 歯科技工 38 :975-984.
 21. Sakakibara T, Murakami S, Hattori N, Nakajima M, Imai K (1997) Enzymatic treatment to eliminate the extracellular ATP for improving the detectability of bacterial intracellular ATP. Anal Biochem, 250 :157-161.
 22. Zamenhof S, Alexander HE, Leidy G (1953) Studies on the chemistry of the transforming activity. I. Resistance to physical and chemical agents. J Exp Med, 98 :373-397.
 23. Loesche WJ, Paunio KU, Woolfolk MP, Hockett RN (1974) Collagenolytic activity of dental plaque associated with periodontal pathology. Infect Immun 9: 329-336.
 24. Takazoe I, Nakamura T, Okuda K (1984) Colonization of the subgingival area by *Bacteroides gingivalis*. J Dent Res 63: 422-426.
 25. Miller SC (1950) Textbook of periodontia; 3rd ed. Blakiston, Philadelphia, 125.
 26. O'Leary TJ, Dranke RB, Naylor JE (1972) The plaque control record. J Periodontol, 43 :38.
 27. 小島健 (1985) 舌苔の臨床的研究. 日口外誌, 31 :1659-1678.
 28. Kitamura K (1967) Studies on the chlamydospore of *Candida albicans*. 1. Its resistance to heating, drying and cooling. Igaku Kenkyu, 37 : 713-724.
 29. Tonzetich J (1971) Direct gas chromatographic analysis of sulphur compounds in mouth air in man. Archs Oral Biol, 16 :587-597.
 30. Kozlovsky A, Gordon D, Gelemter I, Loesche W.J, Rosenberg M (1994) Correlation between the Bana Test and oral malodor parameters. J Dent Res, 73:1036-1042.
 31. Tonzetich J (1978) Oral malodor : an indicator of health status and oral cleanliness. Int Dent J, 28 :309-319.

32. De Boever EH, Loesche,WJ (1996) The Tongue Micro biota and Tongue Surface Characteristics Contribute to Oral Malodor. In: Van Stteenberghe,D. Rosenberg,M., eds.. Bad Breath, a multi disciplinary approach. Leuven University Press, Leuven, 111-121.
33. 吉野潔 (2012) 紫外線殺菌における指標微生物の紫外線感受性(その3). IWASAKI技報 26 :8-14.
34. Sugimoto H (1996) Application and Foundation of Ozone. Korin, Tokyo [in Japanese] 20.

表1 被験者の臨床症状 (N=87)

診査項目	
Probing Depth (PD: mm)	3.3 ± 0.5
Bleeding on Probing (BOP: %)	33.4 ± 12.0
Plaque Control Record (PCR: %)	43.8 ± 12.3
プレストロン値 (ppb)	724 ± 242.5
舌苔付着量	0.12 ± 0.39

平均 ± 標準偏差

表2 口臭と臨床症状の相関係数 (N=87)

診査項目	
Probing Depth (PD: mm)	0.16
Bleeding on Probing (BOP)	0.52 *
Plaque Control Record (PCR)	0.69 *
歯の動揺度	0.04
歯肉退縮量	0.01
舌苔付着量	0.29

* : p<0.01

表3 歯周基本治療による臨床症状の変化 (N=38)

診査項目	歯周基本治療	
	治療前	治療後
Probing Depth (PD: mm)	3.6±0.6 *	2.9±0.4 *
Bleeding on Probing (BOP: %)	34.0±12.6 **	3.5±1.6 **
Plaque Control Record (PCR: %)	44.6±13.7 **	26.3±5.3 **
ブレストロン値 (ppb)	671±183.6 **	326±143.2 **

*:p<0.05 ** :p<0.01 平均±標準偏差

表4 歯周基本治療による各診査項目と
ブレストロン値の相関係数 (N=38)

診査項目	歯周基本治療	
	治療前	治療後
Probing Depth (PD)	0.12	0.26
Bleeding on Probing (BOP)	0.69 *	0.37 **
Plaque Control Record (PCR)	0.72 *	0.01

* : p<0.01, ** : p<0.05

表5 研究でを使用した殺菌機器の概要

項目	仕様
構成品	励起酸素発生用ランプ 4W(UV-1); 1 灯 励起酸素分解用ランプ 6W(UV-2); 2 灯 送風ファン 1 台, トレー 2 枚
安全機能	オートロック機構, 扉開時不点機能, 不作動検出機能
除染・消毒時間	全工程: 25 分 (処理時間 10 分, 分解時間 15 分)

表6 殺菌方法, 殺菌灯の設定およびラバーカップ設置方向

殺菌方法	殺菌灯の設定		ラバーカップ の方向
	UV	O*	
A: コントロール	無効	無効	上向き
B: O*のみ	有効	有効	下向き
C: UVのみ	有効	無効	上向き
D: O*+UV	有効	有効	上向き

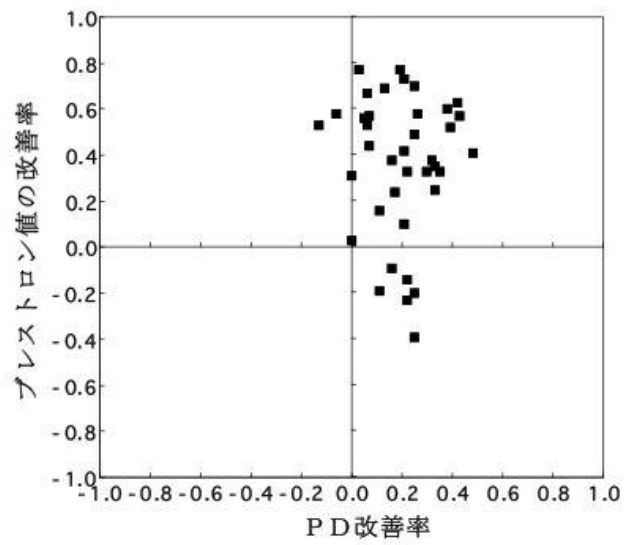


図1 ブレストロン値の改善率とPD改善率の関係 (N=38)

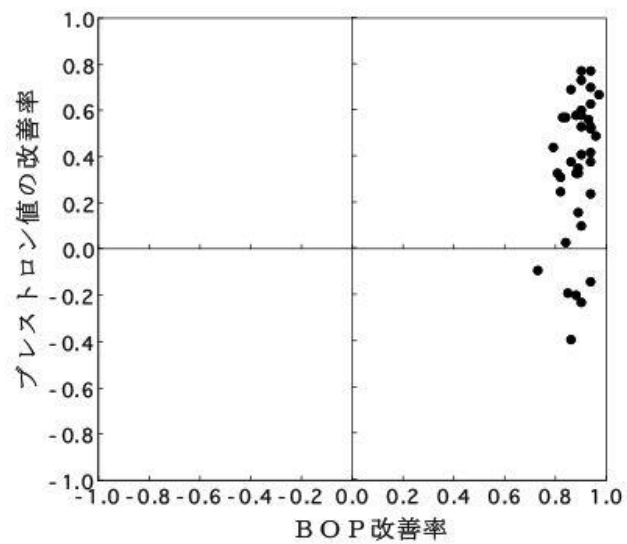


図2 プレストロン値の改善率とBOP改善率の関係
(N=38)

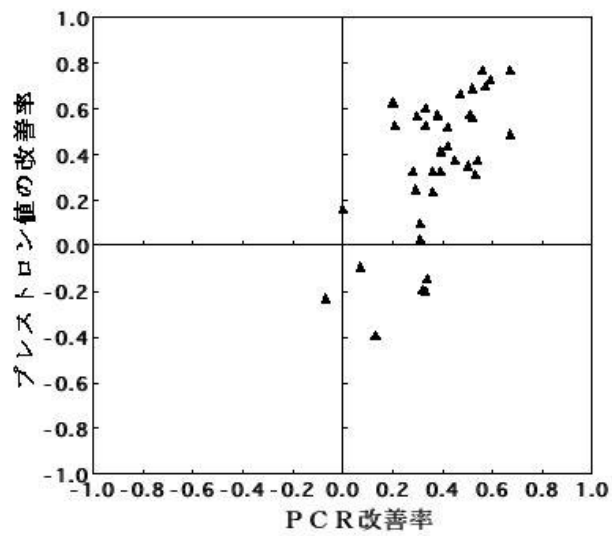


図3 ブレストロン値の改善率とPCR改善率の関係
(N=38)

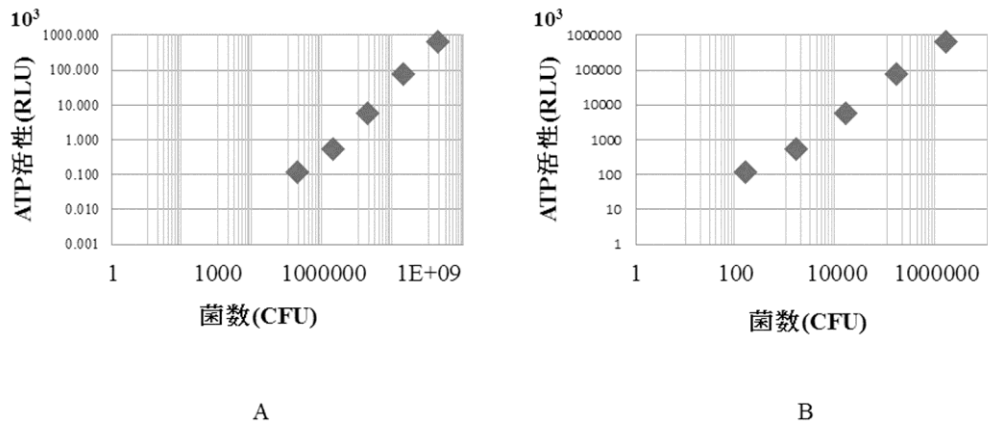


図4 菌数とATP活性の関係 (N=24, A ; 大腸菌, B ; カンジダ菌)

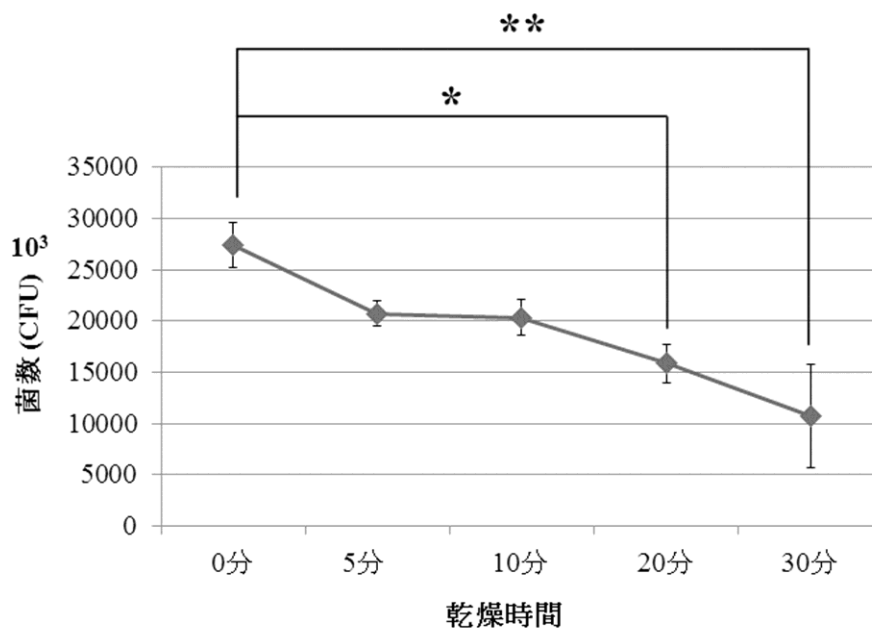


図5 ラバーカップへの大腸菌植菌時の乾燥時間と菌数の評価

(N = 3, *P<0.05, **P<0.01)

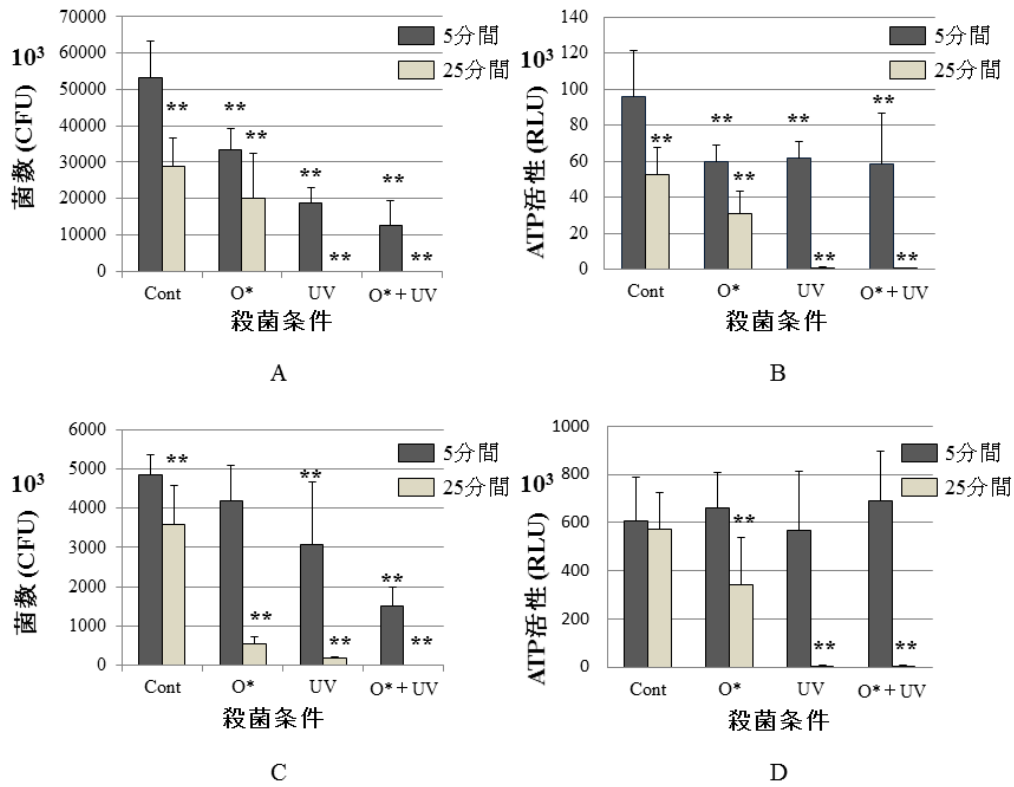


図6 殺菌条件による大腸菌（上図 ; A, B）とカンジダ菌（下図 ; C, D）

の菌数評価（A, C）と ATP 活性への影響（B, D）

（N = 8, **P < 0.01, 各殺菌時間の Cont. と有意差を示す）

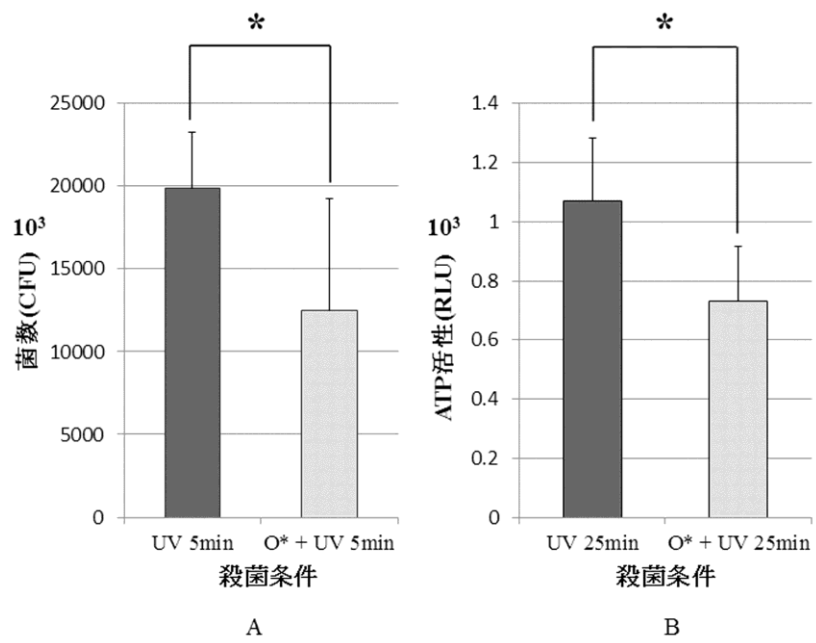


図7 大腸菌殺菌におけるO*の付加効果

(A; 菌数評価, B; ATP活性) (N = 6, *P < 0.05)

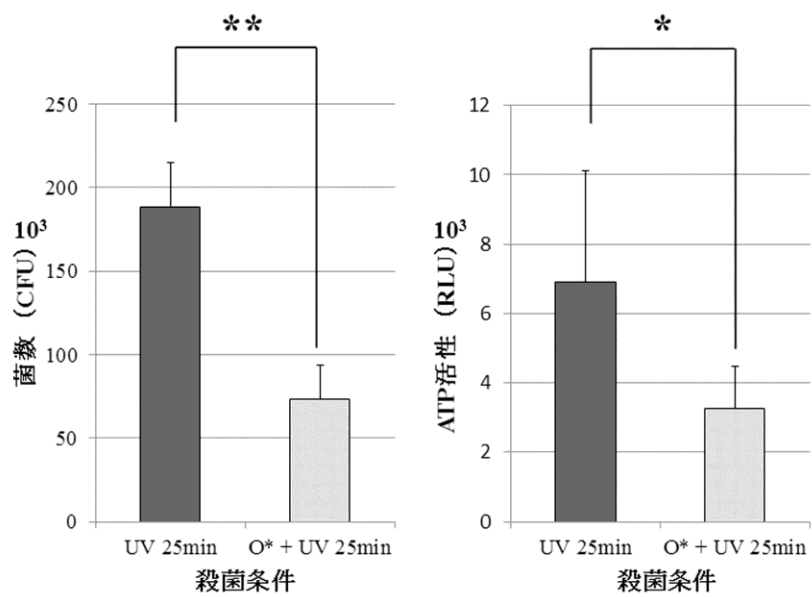


図8 カンジダ菌殺菌におけるO*の付加効果

(A; 菌数評価, B; ATP活性) (N=6, *P<0.05, **P<0.01)