



Title	歯ブラシによる機械的刺激が歯肉微小循環機能と歯周ポケット酸素分圧に及ぼす影響
Author(s)	田中, 宗雄
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3151132
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

博士論文題名

歯ブラシによる機械的刺激が歯肉微小循環機能と
歯周ポケット酸素分圧に及ぼす影響

学位申請者

田 中 宗 雄

歯ブラシによる機械的刺激が歯肉微小循環機能と歯周ポケット酸素分圧に及ぼす影響

田 中 宗 雄

緒 言

一般に、ブラッシングが歯周病の予防および治療に有効であることは広く認められており、その効果は、主として歯垢除去によるものと考えられている。一方、古くから、ブラッシングの歯肉に対する機械的刺激による効果も無視できないといわれているが、その効果についての報告は少なく、その結果は必ずしも一致していない^{1,2)}。ヒトを対象として、口腔清掃を21日間中止することで歯肉炎を惹起させた後、ローリング法でのブラッシングによる歯垢除去および機械的刺激を同時に行った場合と、歯肉に機械的刺激を加えないように縁上および歯間部の歯垢を除去した場合との比較では、それぞれの処置によって歯肉炎の改善が認められたが、両処置間での改善効果には差ではなく、歯肉への機械的刺激単独による歯肉炎への効果は認められなかったという¹⁾。一方、サルを対象として、口腔清掃を8カ月間中止することによって歯肉炎を惹起させた部位に対して、28日間、毎日、チャータース法に加えてスクラッピング法による機械的刺激を行った場合には、歯垢が存在しているても、歯肉の腫脹の軽減や歯肉組織への炎症細胞の浸潤面積の減少といった炎症の改善がみられたと報告されている^{2,3)}。

歯ブラシによる機械的刺激の短期的な影響については、歯肉の温度や微小循環機能の変化について調べられている。Krooneら⁴⁾はブラッシング後の歯肉温度の変化を調べ、ブラッシング後に歯肉溝および付着歯肉の温度が上昇することを示した。Nukiら⁵⁾は、ブラッシング後のイヌ付着歯肉の血流量を¹³³Xenonクリアランス法を用いて調べ、ブラッシング後に歯肉血流量が増加することを明らかにした。また、Perryら⁶⁾によるレーザードップラー血流計を用いた研究では、ヒト健常歯肉にブラッシングを行った直後に、乳頭部歯肉の血流量に有意の増加を認めたという。さらに、Haniokaら⁷⁾は、組織反射スペクトル解析法を用いて、ブラッシング後の歯肉ヘモグロビン量とヘモグロビン酸素飽和度を測定した。ブラッシング直後には、

歯肉ヘモグロビン量が急激に増加するが、1分後には減少に転じ、機械的刺激後1分から20分までは刺激前に比べ有意に低下すること、一方、酸素飽和度は機械的刺激直後より上昇し始め、5~10分後に最大となった後に徐々に減少し、その有意の上昇は約25分間持続することを示した。以上のことから、ブラッシングによる機械的刺激は歯肉の微小循環機能および酸素受給動態に何らかの影響を及ぼしていることが考えられるが、その詳細については、なお不明な点も多い。

歯肉局所への酸素の運搬は毛細血管内に存在する歯肉ヘモグロビンによるが⁸⁾、その酸素は、さらに組織中に拡散し、細胞内において代謝・消費される⁹⁾。しかし、組織中の酸素の一部は歯肉溝滲出液に含まれ、歯周ポケットに至ると思われる。したがって、歯肉局所に運ばれた酸素が歯周ポケット酸素分圧に直接または間接的に影響を及ぼすことが考えられる。そこで、本研究では、まず、歯周ポケット酸素分圧と歯肉微小循環機能との関連性について検討し、次いで、ブラッシングによる機械的刺激が歯肉の微小循環機能および歯周ポケット酸素環境に及ぼす短期的および長期的影響を明らかにすることを目的として、以下の実験を行った。

実験 1. 歯周ポケット酸素分圧と歯肉微小循環機能との関連性

材料ならびに方法

大阪大学歯学部予防歯科を受診した患者の中から、実験への参加を同意した者で、特定の内科的疾患をもたない29歳から68歳、平均年齢49.2歳の32名（男14名、女18名）を被験者とした。被験者は過去5年間に歯周治療を受けたことがないことを確認した。

初診時に上顎前歯唇側隅角部の歯周ポケットの深さを測定し、約4mm以上の深さのある部位の中から最も深い部位を測定対象とした。臨床指標として、歯肉炎指数（MGI）¹⁰⁾、歯垢指数（PII）¹¹⁾、歯周ポケットの深さ（PPD）、歯肉溝滲出液量

(GCF) を用いた。GCF はペリオトロン (Periotron 6000, HARCO Electronics, Winnipeg, Canada) により測定した。

PPD の測定が歯肉微小循環に与える影響を少なくするために、初診から 2 週間後の再診時に歯肉ヘモグロビン酸素飽和度 (SO_2) と歯周ポケット酸素分圧 (PpO_2) を測定した。 SO_2 の測定には組織スペクトル分析装置 (TS-200, 住友電気工業 (株), 大阪) を使用した。オプティカルプローブは、測定時にプローブにより加えられる歯肉への圧力が微小循環系に及ぼす影響をできる限り除くために接触センサーを用い、歯肉表面に垂直に接触させ、1 部位について 10 本のスペクトルを測定した。各スペクトルから、反射スペクトル解析法¹²⁾により算出された SO_2 の平均値をその部位の代表値とした。

PpO_2 は酸素電極法により測定した¹³⁾。歯周ポケット測定用に改良した温度センサー付きの酸素電極には、Pt 線、Ag 線と Cu コンスタンタン熱電対とが直径 0.4mm のテフロンチューブに内蔵されており、酸素電極および温度センサーを先端から 0.3 ~ 0.5mm のところに位置するように設計した。

PpO_2 は温度補償回路付きのデジタル PO_2 モニター (POG-203, ユニークメディカル, 東京) により測定した。酸素分圧の較正は、通法に従って、測定直前に、大気圧にてエアーポンプにより気泡を発生させた蒸留水を用いて行った^{13, 14)}。ポケット内の温度とキャリブレーション時の温度の違いによる PpO_2 の補正是、Hedley - Whyte の方法¹⁵⁾により電子回路上で行った。電極を歯周ポケットに挿入後、 PpO_2 の測定を連続的に行い、5 分以内に PpO_2 の値が安定することを確認し、その値を読みとった。

PPD の測定は、センサーをポケット内に挿入した後、歯肉辺縁の高さでセンサーにマークをつけて、先端からマーク部位までの長さを 0.01mm 単位でノギスで測定した。この測定方法の再現性を確認するために、歯周プローブによって 0.1mm 単位で測定したポケット深さと比較した。両者の単相関関係を調べたところ非常に強い正の相関を認め ($r=0.99$, $p<0.0001$)、また、両者の差を t 検定により分析した結果、有意の差が認められなかったことから、以後、センサーにつけたマークにより測定された値を PPD として分析に用いた。

MGI や PII といったカテゴリー変数は、0, 1 の部位とその他の部位に分け、それぞれに 0 と 1 のダミー変数を割り振った。 PpO_2 と各指標間の関係は

単相関係数を用いて評価し、さらに、 PpO_2 を従属変数とし、他の指標を独立変数とした重回帰分析を行った。

結果

被験部位の歯垢の状態は、PII が 0 または 1 である部位が 21 部位であったのに対して、PII が 2 または 3 である部位が 11 部位であった。また、歯肉炎症の状態は、10 部位において MGI が 0 または 1 であった。残りの 22 部位での MGI は 2 または 3 であり、MGI が 4 の部位は認められなかった。その他の臨床評価の結果について表 1 に示す。 PpO_2 を測定した部位の PPD のレンジは 3.9mm から 9.2mm であり、GCF のレンジは 12.0 から 187.0 であった。また、 PpO_2 は、 SO_2 に比して、広いレンジを示した。

単相関分析の結果、表 2 に示すように、 PpO_2 は、 SO_2 との間に正の相関 ($r=0.69$, $p<0.0001$) を、PPD との間に負の相関 ($r=-0.57$, $p=0.0005$) を示した。

表1 検査部位の測定値 (N=32)

変数	平均値 ± 標準偏差	レンジ
歯周ポケットの深さ (PPD, mm)	5.5 ± 1.4	3.9 - 9.2
ペリオトロン値 (GCF)	90.2 ± 52.7	12.0 - 187.0
歯肉ヘモグロビン酸素飽和度 (SO_2 , %)	66.1 ± 9.3	52.5 - 81.3
歯周ポケット酸素分圧 (PpO_2 , mmHg)	27.2 ± 11.2	6.7 - 52.0

表2 歯周ポケット酸素分圧 (PpO_2) と他の各測定値との相関性 (N=32)

変数	相関係数	p 値
歯肉炎指数 (MGI)	-0.25	0.1679
歯垢指数 (PII)	-0.05	0.7798
歯周ポケットの深さ (PPD, mm)	-0.57	0.0005
ペリオトロン値 (GCF)	-0.08	0.6720
歯肉ヘモグロビン酸素飽和度 (SO_2 , %)	0.69	<0.0001

表 3 に、 PpO_2 を従属変数とし、MGI, PII, PPD, GCF および SO_2 を独立変数として重回帰分析を行った結果を示す。このモデルは、分散分析の結果、p 値が 0.0002 と有意の適合度を示した。また、決定係数は 0.515 であり、このことは、このモデルにより、 PpO_2 の変動の 51.5% を説明できることを示している。独立変数のなかでは、 SO_2 のみが有意に

独立して PpO_2 との関連性を示した ($p=0.0005$)。

表3 歯周ポケット酸素分圧 (PpO_2) を従属変数とした重回帰分析 (N=32)

	β	s.e.(b)	b	p値
歯肉炎指数 (MGI)	-3.482	3.857	-0.147	0.3750
歯垢指数 (PII)	5.568	3.266	0.240	0.1001
歯周ポケットの深さ (PPD, mm)	-0.995	1.487	-0.127	0.5091
ペリオトロン値 (GCF)	0.047	0.034	0.220	0.1791
歯肉ヘモグロビン酸素飽和度 (SO ₂ , %)	0.887	0.223	0.739	0.0005

実験2. 歯ブラシによる機械的刺激が SO_2 と歯肉酸素分圧 (TpO_2) に及ぼす短期的影響

材料ならびに方法

体重 10~15Kg の雑種の成犬 10 頭を用い、前処置として、すべての歯に対してスケーリングとブラッシングを週 2 回、4 週間にわたって行った。これらの処置はペントバルビタールナトリウム (30mg/Kg) の腹腔内注射による全身麻酔下で行った。歯肉が健常であることを、第 1 大臼歯の頬側歯肉の MGI が 0 で、かつ PPD が 3mm 以下であることによって確認した。

10 頭のイヌの上下顎左右側の第 1 大臼歯の頬側歯肉に対して以下の 4 つの方法を割り付けた。刺激部位と測定部位については図 1 に示す。

- ① 付着歯肉に対する毛先微振動刺激。
- ② 付着歯肉に対する圧迫刺激。
- ③ 辺縁歯肉に対する毛先微振動刺激。
- ④ 刺激無し (コントロール)。

として、200g の圧で 10 秒間行った。歯ブラシは、歯ブラシの柄に貼り付けたひずみゲージ (N11-FA-2-120-VSE3, 日本電気三栄、東京) からの電気信号を、動ひずみ測定器 (6M82, 日本電気三栄、東京) にてモニターすることにより一定に保った。

SO_2 は、組織スペクトル分析装置を使用して、機械刺激直前、刺激 1 分後、5 分後、10 分から 90 分にかけては 10 分毎に測定した。それぞれの時点において 10 本の反射スペクトルを測定し、各スペクトルから算出された SO_2 の平均値をその代表値として用いた¹⁶⁾。

TpO_2 の測定は、クラーク型の電極と酸素分圧モニター (POG-5500, MT 技研、東京) を用いて行った¹⁷⁾。測定に先立って 35°C の恒温水槽中にて大気圧に対する較正を行った。直径 0.3mm の針型酸素電極を歯肉辺縁に沿って挿入し、酸素分圧を経時的にモニターし、レコーダーに記録した。すべての測定において、歯肉への電極の刺入から 5 分以内に TpO_2 は安定した値を示した。酸素電極の刺入に際して、また、歯肉への機械的刺激を与えた場合において、電極周囲から出血が認められた場合には、ただちに実験を中止し、他の部位を実験部位として用いた。なお、 PpO_2 の測定は、イヌ健常歯肉の歯周ポケットが 3mm 以下と浅く、連続測定が困難であったため行わなかった。

歯肉への機械的刺激の各条件における SO_2 および TpO_2 の経時的变化については、反復測定分散分析法により検定し、各条件における 0 日と以降の測定値との有意差の検定はコントラストステートメントにより分析した。各刺激条件における TpO_2 の最大上昇度の比較は、多重比較分散分析法によった。

結果

歯ブラシによる機械的刺激後の SO_2 の変化を表 4 に示す。 SO_2 は、刺激直後に一時的に減少したのち、10 分以内に初期値より上昇し、その後、しだいに低下し初期値にもどった。 SO_2 は、毛先微振動刺激を付着歯肉に与えた時に最も上昇し、その値は、初期値の 12% に達した。この刺激による有意の上昇は、刺激後 5 分から 80 分まで持続した。付着歯肉を圧迫した場合には、 SO_2 は同程度にまで上昇したが、その有意の変化は 25 分間しか持続しなかった。毛先微振動を辺縁歯肉に加えた時の SO_2 の変化は小さく、また、コントロール群の SO_2 は、

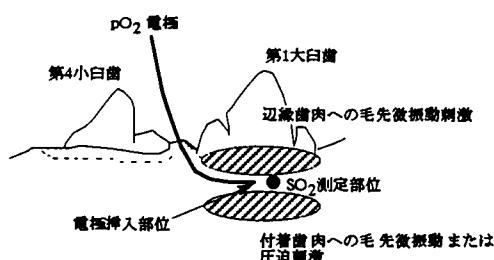


図1 刺激および測定部位

なお、歯ブラシによる機械的刺激は、歯肉のヘモグロビン量と SO_2 を最も大きく変化させる条件

ほとんど変動しなかった。

表5にTpO₂の変化を示す。機械的刺激後のTpO₂の変化はSO₂の変化と類似していたが、処置群間の差がより著明であった。TpO₂もSO₂と同様に、毛先微振動刺激を付着歯肉に加えた場合に最も高い値を示した。また、初期値に比して、有意の上昇は10分後から認められ、この上昇は80分間以上持続した。毛先微振動刺激を辺縁歯肉に加えた場合にもTpO₂の上昇が認められたが、その上昇の程度および時間は、付着歯肉に毛先微振動刺激を加

えた場合よりも小さかった。また、付着歯肉に圧迫刺激を加えた時のTpO₂の上昇は小さく、有意の上昇は10分後にのみ認められた。コントロール群のTpO₂は、ほとんど変動を示さなかった。

表6に機械的刺激後のTpO₂の最大上昇度を比較した結果を示す。TpO₂の上昇度が最も大きかったのは、毛先微振動刺激を付着歯肉に加えた場合で、その最大上昇度は146%で、圧迫刺激を付着歯肉に加えた場合より有意に上昇した。

表4 歯ブラシによる機械的刺激後の歯肉ヘモグロビン酸素飽和度(SO₂)の変化
(平均値±標準誤差, N=10)

時間 (分)	毛先振動刺激		圧迫刺激		毛先振動刺激		刺さなし (コントロール)	
	付着歯肉	付着歯肉	付着歯肉	辺縁歯肉	付着歯肉	辺縁歯肉	付着歯肉	辺縁歯肉
刺激前	77.5 ± 1.2		78.8 ± 2.0		78.8 ± 2.0		79.1 ± 2.5	
1	65.9 ± 1.4 *		78.3 ± 2.9		75.0 ± 3.4		78.1 ± 2.4	
5	84.2 ± 2.0 *		84.4 ± 2.3 *		80.6 ± 2.3		79.1 ± 1.9	
10	86.7 ± 1.4 *		85.4 ± 2.1 *		82.7 ± 3.0 *		80.0 ± 1.7	
20	84.1 ± 0.4 *		85.2 ± 2.9 *		79.5 ± 2.8		79.6 ± 2.1	
30	83.4 ± 1.2 *		82.5 ± 2.3 *		79.1 ± 2.3		79.1 ± 1.8	
40	82.3 ± 1.3 *		80.0 ± 1.9		78.0 ± 1.6		79.3 ± 1.9	
50	81.4 ± 1.3 *		78.9 ± 2.0		77.3 ± 2.2		78.6 ± 2.0	
60	80.0 ± 1.2 *		78.8 ± 1.9		74.7 ± 2.4		78.6 ± 2.1	
70	79.2 ± 1.1 *		78.6 ± 2.0		75.0 ± 2.8		78.4 ± 2.1	
80	78.9 ± 1.2 *		78.8 ± 2.1		77.3 ± 2.3		78.4 ± 2.1	
90	78.3 ± 1.2		78.7 ± 2.0		74.7 ± 2.8		78.3 ± 2.1	

*刺激前との間に有意差あり(p<0.05)

表5 歯ブラシによる機械的刺激後の歯肉酸素分圧 (T_pO_2) の変化
(平均値土標準誤差, N=10)

時間 (分)	毛先振動刺激 付着歯肉	圧迫刺激 付着歯肉	毛先振動刺激 辺縁歯肉	刺激なし (コントロール)
刺激前	24.8 ± 1.1	23.5 ± 0.7	22.1 ± 1.8	22.5 ± 0.8
1	23.2 ± 1.2 *	22.8 ± 0.5	20.3 ± 1.7 *	22.3 ± 1.1
5	24.8 ± 1.3	23.9 ± 0.9	25.3 ± 1.8 *	22.6 ± 0.9
10	30.1 ± 1.7 *	24.7 ± 0.9	26.8 ± 1.9 *	22.9 ± 0.8
20	34.7 ± 1.0 *	25.2 ± 1.3 *	26.6 ± 2.2 *	23.0 ± 0.8
30	34.7 ± 1.3 *	24.8 ± 1.1	23.6 ± 1.9 *	22.8 ± 0.8
40	33.7 ± 1.5 *	24.6 ± 1.0	22.3 ± 1.7	22.8 ± 0.9
50	32.7 ± 1.6 *	23.9 ± 0.8	22.1 ± 1.8	22.9 ± 1.1
60	31.0 ± 1.5 *	23.4 ± 0.7	22.1 ± 1.8	22.4 ± 0.8
70	30.6 ± 1.9 *	23.4 ± 0.7	22.1 ± 1.8	22.4 ± 0.8
80	28.5 ± 1.9 *	23.4 ± 0.7	22.1 ± 1.8	22.4 ± 0.8
90	27.1 ± 1.6 *	23.4 ± 0.7	22.1 ± 1.8	22.4 ± 0.8

*刺激前との間に有意差あり ($p < 0.05$)

表6 歯ブラシによる機械的刺激後の歯肉酸素分圧 (T_pO_2) の最大上昇度
(相対値, 平均値土標準偏差, N=10)

機械的刺激様式		
刺激法	刺激部位	最大上昇度(相対値, %)
毛先振動刺激	付着歯肉	146.2 ± 8.0 *
毛先振動刺激	辺縁歯肉	128.1 ± 3.1
圧迫刺激	付着歯肉	108.5 ± 3.6

*圧迫刺激を付着歯肉に加えた最大上昇度との間に有意差あり ($p < 0.05$)

実験 3. 歯ブラシによる機械的刺激が歯肉微小循環機能および P_pO_2 に及ぼす長期的影響

材料ならびに方法

図2に実験スケジュールを示す。雑種のイヌ6頭(10-15 kg)の第4小白歯および第1大白歯に対して、歯石除去およびブラッシングを週2回ずつ4週間行い、被験歯頬側歯肉のMGIが0で、かつPPDが3 mm以下となったことを確認した。次いで、実験的歯周炎を惹起させるために8週間の準備期間を設け、被験歯の歯頸部にリガチャーを結紮し、ソフトフード(オリエンタル酵母、東京)を与えるとともに口腔清掃を中止した¹⁶⁾。8週間後、MGIが2以上になったことを確認した後、リガチャーを除去し、実験を開始した。

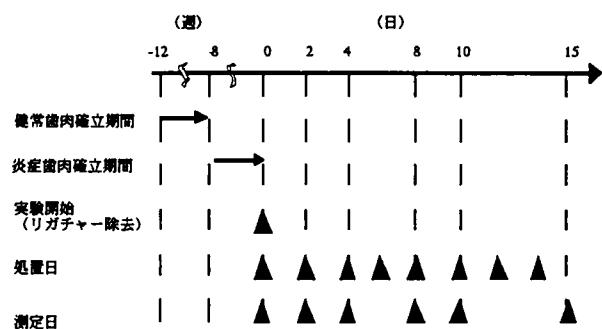


図2 実験スケジュール

歯肉への機械的刺激の影響を調べるために、口腔内を4分割し、歯垢除去(PR部位)、機械的刺激(MS部位)、機械的刺激および歯垢除去併用(MS+PR部位)、処置なし(NT部位)の各処置を4つの部位に割り振った。その際、部位による差を少なくするため、各3頭の処置の割り付けを、上

下顎単位で入れ替えた。PR 部位では、歯肉縁上の歯垢を綿球とエクスプローラーにて除去し、歯間部歯面の歯垢はデンタルフロスにて除去した。これらの処置は歯肉に触れないように注意深く行った。MS 部位では、縁上の歯垢は除去せず、歯ブラシの毛先微振動による機械的刺激のみ加えた。ブラッシングは、200 g のブラッシング圧で10秒間、辺縁および付着歯肉に行なった。歯ブラシ圧は、実験 2 と同様に歯ブラシの柄に貼り付けたひずみゲージからの電気信号を、動ひずみ測定器にてモニターすることにより一定に保った。なお、これらの処置は歯肉辺縁の歯垢に触れないように注意して行った。MS+PR 部位では、MS 部位と PR 部位に加えた処置を併用した。以上の処置はペントバルビタールナトリウム (30 mg/kg) の腹腔内注射による全身麻酔下で行なった。MGI, PII, PPD, 臨床的アタッチメントレベル (CAL), GCF, SO₂ および PpO₂ の測定は、第 4 小臼歯と第 1 大臼歯の各歯の頬側面の近・遠心根相当部 2 力所に充填したアマルガムを基準にして行なった。なお、CAL は充填したアマルガムの下端からポケット底までの距離とし、0 日と各測定日の距離との差を CAL の獲得とした。各処置はリガチャー除去後 2 日毎に 2 週間、各評価は 0, 2, 4, 8, 10, 15 日目にペントバルビタールナトリウムの腹腔内注射による全身麻酔下で行なった。

0 日における各指標の処置群間の比較には対応のある t 検定を用いた。また、測定値の経日的变化については反復測定分散分析法を用いた。各処置群の 0 日と以降の測定値との有意検定はコントラストステートメントにより、そして、処置群間の変化パターンの検定は時間と処置との交互作用により分析した。なお、ブラッシングによる機械的刺激の単独ならびに付加的效果を調べるために、これらの分析は、主に、NT 部位と MS 部位、そして、PR 部位と MS+PR 部位を比較することによって行った。

結果

表 7 に各処置による臨床変数の変化を示す。実験開始時 (0 日) における 4 処置部位での PPD のレンジは 2.0-2.8 mm であった。歯垢除去を行わなかった NT および MS 部位では、実験期間中 PII は 1.5-3.0 の間にあった。しかし、歯垢除去を行なった PR および MS+PR 部位では、4 日目以降 PII は 0 となった。

MGI の変化は、NT 部位ではほとんど認められな

かったが、MS 部位において 8 日目以降に初期値に比して有意の減少がみられた。歯垢除去を行なった PR および MS+PR 部位では、4 日目以降に初期値に比して有意の減少が認められ、MS+PR 部位では 15 日目に 0 となった。また、PR と MS+PR の 2 部位間の比較を行なった結果、8 日目以降、MS+PR 部位の方が PR 部位よりも低い MGI を示した。

PPD については、NT および MS 部位では、ほとんど減少が認められなかった。しかし、歯垢除去を行なった PR および MS+PR 部位では共に大きく減少した。また、MS+PR 部位の PPD は、PR 部位のそれに比して、4 日目以降に小さい値を示した。

CAL の獲得については、NT および MS 部位ではほとんど変化は認められなかった。また、PR 部位でも有意の変化はみられなかったが、MS+PR 部位における CAL の獲得は有意であった。処置部位間について、MS+PR 部位では、PR 部位よりも、8 日目と 10 日目で有意の CAL の獲得が認められた。

表 8 に各処置による微小循環機能変数の変化を示す。MS, PR および MS+PR 部位における GCF は、リガチャー除去後 2-4 日目で有意に減少した。SO₂ の有意の増加は、GCF の変化よりやや遅れて認められたが、PpO₂ は GCF と同様にリガチャー除去後 2-4 日に有意の増加を認めた。NT 部位では、これらの変数に有意の変化は認められなかった。また、これらの微小循環機能変数について、NT と MS の 2 部位間で比較すると、GCF は、2 日目以降に MS 部位の方が NT 部位より低い値を示し、PpO₂ は、8 日目以降に、SO₂ は、10 日目以降に MS 部位の方が NT 部位より高い値を示した。PR と MS+PR の 2 部位間の比較では、GCF は、4 日目以降に PR 部位よりも MS+PR 部位の方が低い値を示し、PpO₂ は、8-10 日目に PR 部位よりも MS+PR 部位の方が高い値を示した。SO₂ は、両部位間で差を示さなかった。

表 9 に、各測定値について、処置と時間の交互作用の検定結果を示した。臨床変数については、MGI は、歯垢存在下と除去下のいずれの場合も歯ブラシによる機械的刺激によって有意に減少することが示された。一方、PPD については、いずれの場合においても歯ブラシによる機械的刺激の効果は認められなかった。しかし、CAL は、歯垢除去下でのみ機械的刺激によって有意の獲得が示された。微小循環機能変数については、GCF は、歯垢存在下と除去下のいずれの場合も機械的刺激の効果が示されたが、SO₂ と PpO₂ では歯垢存在下でのみその効果が示された。

表7 各処置による実験的歯周炎歯肉の臨床変数の変化(平均値±標準誤差, N=6)

期間 (日)	歯垢除去なし		歯垢除去あり	
	処置なし(NT)	機械的刺激(MS)	歯垢除去(PR)	機械的刺激および 歯垢除去併用(MS+PR)
歯垢指数 (PII)				
0	2.3 ± 0.2	2.5 ± 0.2	2.5 ± 0.2	2.4 ± 0.1
2	2.1 ± 0.1	2.4 ± 0.2	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1
4	2.3 ± 0.2	2.3 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
8	2.3 ± 0.2	2.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
10	2.8 ± 0.0	2.6 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
15	3.0 ± 0.0	2.6 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
歯肉炎指数 (MGI)				
0	2.5 ± 0.0	2.3 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.4 ± 0.1
2	2.5 ± 0.0	2.3 ± 0.1	2.0 ± 0.1	2.4 ± 0.1 †
4	2.3 ± 0.2	1.8 ± 0.2	1.2 ± 0.1 *	1.4 ± 0.1 *
8	2.4 ± 0.1	1.7 ± 0.2 *	1.3 ± 0.1 *	0.7 ± 0.1 *†
10	2.0 ± 0.0	1.4 ± 0.2 *	0.8 ± 0.1 *	0.2 ± 0.1 *†
15	2.0 ± 0.0	1.2 ± 0.2 *	0.5 ± 0.1 *	0.0 ± 0.0 *†
歯周ポケットの深さ (PPD, mm)				
0	2.2 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.0 ± 0.0 †
2	2.2 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.2 ± 0.1 *
4	2.2 ± 0.1	2.0 ± 0.1	1.7 ± 0.1 *	1.5 ± 0.1 *†
8	2.2 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.5 ± 0.1 *	1.3 ± 0.0 *†
10	2.0 ± 0.0	1.9 ± 0.1	1.3 ± 0.1 *	1.1 ± 0.0 *†
15	2.0 ± 0.0	1.9 ± 0.1	1.2 ± 0.0 *	1.0 ± 0.0 *†
臨床的アタッチメントの獲得 (CALの獲得, mm)				
0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.1	0.0 ± 0.0
4	0.0 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1
8	0.0 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1 *†
10	-0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2 *†
15	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.8 ± 0.2 *

*0日との間に有意差あり ($p < 0.05$)† 機械的刺激を行わない部位との間に有意差あり ($p < 0.05$)

表8 各処置による実験的歯周炎歯肉の微小循環機能変数の変化(平均値±標準誤差, N=6)

期間 (日)	歯垢除去なし		歯垢除去あり	
	処置なし(NT)	機械的刺激(MS)	歯垢除去(PR)	機械的刺激および歯垢除去併用(MS+PR)
歯肉溝滲出液量 (GCF)				
0	64.3 ± 1.0	62.1 ± 0.4	66.8 ± 0.2	66.0 ± 0.3
2	64.5 ± 0.9	61.4 ± 0.2	† 59.5 ± 1.3 *	59.6 ± 0.1 *
4	66.4 ± 0.7	36.0 ± 0.5 *†	29.0 ± 1.1 *	20.1 ± 1.8 *†
8	65.8 ± 0.7	32.3 ± 0.6 *†	26.0 ± 0.6 *	18.0 ± 2.5 *†
10	66.4 ± 0.3	19.6 ± 0.6 *†	16.6 ± 1.7 *	12.9 ± 2.0 *†
15	64.6 ± 0.6	19.3 ± 0.1 *†	14.8 ± 0.3 *	11.4 ± 0.6 *†
歯肉ヘモグロビン酸素飽和度 (SO₂, %)				
0	67.1 ± 3.8	66.1 ± 6.0	67.2 ± 6.2	65.6 ± 5.2
2	67.3 ± 6.5	73.2 ± 4.5	71.0 ± 5.4	73.3 ± 6.9
4	63.7 ± 5.8	74.5 ± 3.1	73.0 ± 2.8	74.7 ± 6.4
8	65.2 ± 5.1	74.2 ± 3.5 *	74.3 ± 2.8	75.5 ± 2.9
10	63.5 ± 5.5	75.5 ± 4.4 *†	74.3 ± 4.6 *	75.8 ± 4.0 *
15	63.8 ± 5.9	76.4 ± 2.7 *†	75.1 ± 4.5 *	75.6 ± 3.1 *
歯周ポケット酸素分圧 (P_pO₂, mmHg)				
0	37.4 ± 3.1	35.7 ± 0.7	35.7 ± 1.1	35.1 ± 0.7
2	34.1 ± 1.3	35.4 ± 0.5	36.3 ± 1.2 *	36.8 ± 0.4 *
4	38.0 ± 3.4	40.6 ± 1.1 *	38.7 ± 0.4 *	39.3 ± 0.4 *
8	35.1 ± 0.9	40.3 ± 1.4 *†	38.1 ± 0.4 *	40.3 ± 0.5 *†
10	35.2 ± 0.8	44.1 ± 0.6 *†	40.4 ± 0.6 *	41.8 ± 0.8 *†
15	34.4 ± 0.4	44.2 ± 0.5 *†	41.6 ± 0.3 *	42.4 ± 0.7 *

*0日との間に有意差あり (p < 0.05)

† 機械的刺激を行わない部位との間に有意差あり (p < 0.05)

表9 反復測定分散分析における処置と時間の交互作用

	歯垢除去なし		歯垢除去あり	
	処置なし(NT)対 機械的刺激(MS)		歯垢除去(PR)対 機械的刺激および 歯垢除去併用(MS+PR)	
	F値	p値	F値	p値
歯肉炎指数 (MGI)	7.65	0.0002	19.29	0.0001
歯周ポケットの深さ (PPD, mm)	0.46	0.801	2.22	0.084
アタッチメントの獲得 (CALの獲得, mm)	0.60	0.697	4.80	0.003
歯肉溝滲出液量 (GCF)	584.42	0.0001	12.73	0.0001
歯肉ヘモグロビン酸素飽和度 (SO ₂ , %)	2.97	0.031	0.09	0.994
歯周ポケット酸素分圧 (P _p O ₂ , mmHg)	3.97	0.009	1.89	0.132

考察

緒言でも述べたように、歯ブラシによる歯肉への機械的刺激効果に関する研究^{5,7,17)}から、機械的刺激が、短期的には、歯肉微小循環機能や酸素需給動態に種々の影響を及ぼすことが考えられる。したがって、この機械的刺激が、歯周病原性菌の定着における重要な環境因子のひとつと考えられるPpO₂にも影響を及ぼすことが十分に推測される。そこで、本研究では、まず、PpO₂と歯肉微小循環機能との関連性について明らかにしようとした。

PpO₂の測定は、クラーク電極を使用した酸素電極法によって行った¹³⁾。クラーク電極とは、貴金属を用いて作られた陰極と陽極を酸素透過性の膜で覆ったものであり、その電極間の酸化還元電位を利用することで、pO₂の測定を行うことができる。溶液中の酸素は電極の膜を透過して陰極に達するのだが、溶液から電極内への酸素の供給が十分でない場合、電極内の酸素は測定時の化学反応により消費され、次第に減少していく。本研究では、酸素電極を歯周ポケットに挿入してから5分以内にPpO₂が安定した値を示したことから、PpO₂のレベルは、電極内への酸素の供給を維持するのに十分であると考えられる。ここで用いた電極のセンサー部位は、先端より0.3-0.4mmに位置しているので、ポケット底部に近いところのpO₂を測定していると考えられる。測定されたPpO₂の値(6.7-52.0mmHg)は、遠藤の報告(1.6-60.2mmHg)¹⁸⁾と同程度の値を示したが、Mettrauxらの報告(5-27mmHg)¹⁹⁾より少し高かった。この違いは、本研究でPpO₂を測定した部位のPPD(5.5±1.4mm)がMettrauxらの場合(6.9±1.5mm)のそれより浅かったためと思われる。また、本研究でのPpO₂の値は末梢静脈血中のpO₂の値(20-40mmHg)²⁰⁾とほぼ同程度の値を示した。

PpO₂と他の測定値との関連性については、組織液中の酸素分圧に影響すると思われるGCFや口腔側からの酸素の供給に影響することが推測されるPIIはいずれも、単相関および重回帰分析とともに、PpO₂との関連性は示されなかった。PPDについては、有意の負の相関がPpO₂との間に認められた。しかし、重回帰モデルからは除外されたことから、PPDはPpO₂との間に直接的な関連性は低いと考えられる。測定した指標の中では、唯一SO₂が独立してPpO₂に関連していた。このモデルはPpO₂を50%以上説明していた。説明できない部分は、以

前の報告¹⁹⁾にあるように、ポケット内に存在する白血球のような宿主の細胞や微生物の産生物による酸素消費の影響によるものであろう。以上の結果より、PpO₂はSO₂と密接に関連しており、歯周ポケット中の酸素の多くは歯肉組織側から供給されていることが示唆された。

次に、イヌの健常歯肉を対象に、歯ブラシによる機械的刺激方法および刺激部位の違いがSO₂およびTpO₂に与える短期的影響について調べた。歯ブラシによる機械的刺激を加えた1分後、刺激方法の違いにかかわらず、SO₂とTpO₂の減少が認められた。これは、圧迫時の虚血による歯肉局所の酸素不足が、新鮮な血液の流入直後には代償できないため^{21, 22)}と考えられる。つまり、歯ブラシによる機械的刺激直後には一時的にせよ、歯肉は酸素不足の状態に陥っていることを示している。しかし、その後、すぐにSO₂とTpO₂は初期値以上に上昇した。この反応は、以前の報告^{23, 24)}にあるように圧を解放した時の反応性充血によるものであろう。

歯ブラシによる機械的刺激方法の違いによる影響は、付着歯肉に対して圧迫刺激を与えた場合より毛先微振動刺激を与えた場合にTpO₂の上昇は著明であった。しかし、SO₂の上昇は両部位でほとんど同じであった。この結果は、歯肉組織中の脈管構造は他の組織に比して透過性が高く、歯ブラシの毛先微振動は、圧迫刺激よりも血管の透過性をさらに上昇させると考えると説明できるかもしれない。この仮説の裏付けとして、ハムスターの歯肉組織で血管からの高分子の漏出が確認されている²⁵⁾が、他の組織では認められないという報告²⁶⁾がある。また、ブラッシング後、歯肉溝滲出液が増加することが、イヌの健康歯肉で観察されている²⁷⁾。歯ブラシによる歯肉への機械的刺激方法について、Phaneufら²⁸⁾は、ひずみゲージを使用して種々のブラッシング圧を規定し、それらのブラッシング圧で、歯肉に似せた柔軟な材料をブラッシングしたときの毛先の動きの違いを解析している。ブラッシング圧が高くない時には毛先は歯肉上に固定され、歯ブラシの毛は毛先を頂点とした逆三角形の動きをし、毛先は歯に対してパルス状に動き、歯肉を刺激するということを明らかにした。このような動きが歯ブラシの毛先微振動によって生じ、歯肉組織の透過性を高めたのかも知れない。

刺激部位については、毛先微振動による刺激は、辺縁歯肉よりも付着歯肉に加えることでさらにSO₂とTpO₂を増加させた。これは、解剖学的な理

由によるものと思われる。頬側上皮下の血管は口腔粘膜下の血管と連続しており、歯槽粘膜からの動脈は頬側歯肉に血液を供給している。また、血管吻合は歯肉溝上皮下の血管と頬側歯肉下の間にみられる。よって、微小電極周囲の歯肉組織への酸素供給は、辺縁歯肉よりも付着歯肉で歯槽粘膜からの動脈に依存しているのかもしれない²⁹⁾。付着歯肉への毛先微振動刺激は酸素の組織への充足において歯肉微小循環機能を効果的に刺激すると考えられる。以上のことより、歯ブラシによる付着歯肉への毛先微振動刺激は、短期的には、歯肉の酸素充足度を上昇させることができることが示唆された。

次に、歯ブラシによる機械的刺激が歯肉炎症の改善に及ぼす長期的影響を調べるために、イヌ実験的歯周炎歯肉に対して種々の処置を加え、臨床変数および微小循環機能変数の変化を解析した。機械的刺激の臨床効果を歯垢を除去せずに調べた場合、機械的刺激を加えた部位のMGIに有意の減少が認められ、交互作用も有意であった。このことは、機械的刺激単独の臨床効果を示しており、以前の報告^{2,3)}の結果と同様の傾向を示している。歯垢除去および歯肉への機械的刺激を行わなかった部位においても、有意ではないが、MGIの減少がみられた。これは実験初日にリガチャーを除去したことによる影響と思われる。PPDとCALの獲得には、時間と処置との交互作用の有意な変化が認められなかつたが、小森ら³⁾によると、機械的刺激のみでも、歯垢除去のみの場合に比して、PPDの減少傾向を認めたという。これらのことから、15日間という限られた期間では、歯垢の存在下における歯肉炎症改善への機械的刺激単独の臨床効果は明確にできないのではないかと思われる。

歯垢存在下での機械的刺激によって、微小循環機能変数はすべて改善がみられ、また、処置と時間の交互作用も認められた。これらの結果は、歯垢が存在していても、機械的刺激によって炎症歯肉の微小循環機能が改善されることを示している。イヌの実験的歯周炎歯肉¹⁶⁾および成人性歯周炎歯肉¹²⁾では酸素の供給は増加しているが、組織の酸素の要求がこれを上回り、歯肉組織は酸素不足の状態に陥っているといわれている³⁰⁾。先述したように、ブラッシングすると、短期的にはSO₂とTpO₂の上昇がみられる。したがって、これらの変化が繰り返されることにより、長期的には、歯垢が存在していても、歯肉組織の酸素不足の状態が改善されると考えられる。

歯垢を除去した場合、MGIおよびPPDは、機械

的刺激の有無にかかわらず、両部位で有意の減少を示した。このことは、歯垢の除去が歯肉炎症の改善とポケットを減少させるために有効であるという過去の多くの報告³¹⁻³³⁾と一致している。また、両指標ともに、48日目以後は両部位間に有意の差が示された。時間と処置との交互作用は、MGIでは有意であり、機械的刺激を歯垢除去に加えて行うことにより歯肉炎症の改善が促進される可能性を示唆している。しかし、PPDでの交互作用は有意ではないことから、歯周ポケットの減少への機械的刺激の付加的効果は、歯垢が十分に除去された場合は小さいものと考えられる。一方、CALの獲得では、機械的刺激を加えた部位に初期値との間に有意の差が認められ、さらに、時間と処置との交互作用も有意であったことから、CAL獲得に対する歯肉への機械的刺激による付加的効果があるといえよう。PPDの改善効果に比して、CAL獲得への機械的刺激の貢献が大きいことから、歯肉への機械的刺激は歯周ポケット底部の炎症の改善や組織の再生に寄与するのかもしれない。

歯垢除去下では、処置方法にかかわらず、微小循環機能は改善された。しかし、処置と時間の交互作用はGCFにのみ認められた。このことは、GCFが機械的刺激の効果を評価する指標の中で最も感受性が高い指標の一つであることを示しているのかもしれない。SO₂とPpO₂に対して機械的刺激が及ぼす付加的な効果は、ほとんど認めることができなかつたが、これは、SO₂とPpO₂へ及ぼす歯垢除去の影響が、機械的刺激による効果を隠してしまったと考えられる。以上のことより、歯ブラシによる機械的刺激によって、歯垢存在下であっても、MGIの減少や歯肉微小循環機能の改善といった機械的刺激単独の効果がみられ、さらに、歯垢除去を併用することにより、MGIやGCFの減少とCALの獲得といった付加的な効果が得られることが明らかとなった。

本研究の結果は、歯ブラシによる機械的刺激が歯垢存在下でも微小循環機能を改善することを示唆している。ブラッシングによって歯垢を完全に除去することは、ほぼ不可能だと思われるが、それゆえに、歯ブラシによる歯肉への機械的刺激は、歯肉炎症を改善するのに有益であると考えられる。しかし、一般的に、歯ブラシは歯垢除去を目的としてデザインされており、誤った使用法は歯肉に傷を付ける原因となるといわれている³⁴⁾。したがって、今回の研究で行った歯ブラシによる機械的刺激をすぐに家庭でのブラッシング方法へ応用す

ることはできない。歯肉を刺激するのに適した歯ブラシの開発には、さらに、臨床的な研究の蓄積が必要といえよう。

結論

本研究では、まず、ヒトを対象に、歯周ポケット酸素分圧と歯肉微小循環機能との関連性について検討した。次いで、イヌの健常歯肉を用いて歯ブラシによる機械的刺激方法および機械的刺激部位の違いによる歯肉微小循環機能の短期的変化について調べた。さらに、歯ブラシによる機械的刺激が、イヌの実験的歯周炎歯肉の微小循環機能および歯周ポケット酸素環境に及ぼす長期的影響について調べ、以下の結果を得た。

1. ヒト歯周ポケット酸素分圧は、歯周ポケットの深さとの間に有意の負の相関を、歯肉ヘモグロビン酸素飽和度との間に有意の正の相関を示した。また、重回帰分析により歯周ポケット酸素分圧と各測定値との関連性を調べた結果、歯肉ヘモグロビン酸素飽和度のみが有意に独立して歯周ポケット酸素分圧との関連性を示した。
 2. イヌ健常歯肉に、歯ブラシによる機械的刺激を加えると、歯肉ヘモグロビン酸素飽和度と歯肉酸素分圧の上昇が認められた。特に、付着歯肉に毛先微振動刺激を加えた場合に、辺縁歯肉への刺激や圧迫刺激に比して、歯肉ヘモグロビン酸素飽和度と歯肉組織酸素分圧の上昇度は高く、初期値との有意の変化が、歯肉ヘモグロビン酸素飽和度で80分後まで、歯肉酸素分圧で80分以上持続した。
 3. イヌ実験的歯周炎歯肉に対して歯ブラシによる機械的刺激を加えた場合、歯肉炎指数の減少や歯肉溝滲出液量、歯肉ヘモグロビン酸素飽和度や歯周ポケット酸素分圧といった微小循環機能の改善といった機械的刺激単独の効果がみられ、さらに、歯垢除去を併用することによって、歯肉溝滲出液量や歯肉炎指数の減少と臨床的アタッチメントの獲得といった機械的刺激の付加的効果が認められた。
- 以上の結果より、ブラッシングによる機械的刺激は歯肉の微小循環機能を促進し、さらに、歯周ポケット酸素分圧を上昇させることが明らかとなり、これらのことが歯肉炎症の改善に寄与することが示唆された。

謝辞

稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った大阪大学歯学部予防歯科学講座零石聴教授ならびに埴岡 隆助教授に深甚なる謝意を表します。また、実験に御協力いただきました予防歯科学講座の諸先生方に謝意を表します。

文献

- 1) Bonfil, J. J., Fourel, J. and Falabregues, R. (1985) : The influence of gingival stimulation on recovery from human experimental gingivitis. *J. Clin. Periodontol.*, **12**, 828-836.
- 2) 内山純一 (1981) : サルの実験的歯肉炎に対するブラッシング効果の臨床病理組織学的分析. 日歯周誌, **23**, 249-272.
- 3) 小森英世, 姫野 宏, 加藤 雄, 石川 純 (1981) : サルの歯肉炎に対するブラッシングの効果について-歯肉マッサージと歯垢除去の比較-. 日歯周誌, **23**, 249-272.
- 4) Kroone, H., Maeda, T., Stoltze, K. and Brill, N. (1980) : Effect of toothbrush stimulation on temperature of gingival alveolar mucosae. *J. Oral Rehabil.*, **7**, 97-102.
- 5) Nuki, K., Hock, J. M., Shlenker, R. and Hosain, F. (1981) : Measurement of blood flow in attached gingiva of dogs following brushing. *J. Periodont. Res.*, **16**, 66-72.
- 6) Perry, D. A., McDowell, J. and Goodis, H. E. (1997) : Gingival microcirculation response to brushing measured by laser Doppler flowmetry. *J. Periodontol.*, **68**, 990-995.
- 7) Hanioka, T., Nagata, H., Murakami, Y., Tamagawa, H. and Shizukuishi, S. (1993) : Mechanical stimulation by toothbrushing increases oxygen sufficiency in human gingivae. *J. Clin. Periodontol.*, **20**, 591-594.
- 8) Lindblom, L., Tuma, R. F. and Arfors, K. E. (1980) : Influence of oxygen on perfused capillary density and capillary red cell velocity in rabbit skeletal muscle. *Microvasc. Res.*, **19**, 197-208.
- 9) Zajicek, O. and Kindlova, M. (1972) : Oxygen consumption in different degrees of gingivitis. *J. Periodont. Res.*, **7**, 242-246.
- 10) Silness, J. and Löe, H. (1964) : Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol. Scand.*, **22**, 121-135.
- 11) Löe, H. and Silness, J. (1963) : Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta*

- Odontol. Scand.*, **21**, 533-551.
- 12) Hanioka, T., Shizukuishi, S. and Tsunemitsu, A. (1990) : Hemoglobin concentration and oxygen saturation of clinically healthy and inflamed gingiva in human subjects. *J. Periodont. Res.*, **25**, 93-98.
 - 13) Clark, L. C. (1956) : Monitor and control of blood and tissue oxygen tensions. *Trans Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **2**, 41-46.
 - 14) Eberhard, P., Fehlmann, W. and Mindt, W. (1979) : An electrochemical sensor for continuous intravascular oxygen monitoring. *Bio. Pati. Mont.*, **6**, 16-31.
 - 15) Headley-Whyte, J., Radford, E.P. and Laver, M.B. (1965) : Nomogram for temperature correction or electrode calibration during pO₂ measurements. *J. Appl. Physiol.*, **20**, 785-786.
 - 16) Hanioka, T., Shizukuishi, S., Tsunemitsu, A., Joh, S., Sugiyama, K. and Sato, N. (1989) : Haemoglobin concentration and oxygen saturation in dog gingiva with experimentally induced periodontitis. *Archs. Oral Biol.*, **34**, 657-663.
 - 17) Tanaka, M., Hanioka, T., Ojima, M., Hori, T. and Shizukuishi, S. (1994) : Effect of mechanical stimulation by tooth brushing on oxygen tension in dog gingiva. *Archs Oral Biol.*, **39**, 1001-1002.
 - 18) 遠藤英昭 (1983) : ヒト歯肉溝および歯周ポケット内の pH と pO₂. *日歯周誌*, **25**, 688-708.
 - 19) Mettraux, G. R., Gusberti, F.A. and Graf, H. (1984) : Oxygen tension (pO₂) in untreated human periodontal pockets. *J. Periodontol.*, **55**, 516-521.
 - 20) Guyton, A. C. (1976) : Textbook of medical physiology. ed. 5, Saunders, Philadelphia, 543-556.
 - 21) Shizukuishi, S., Hanioka, T. and Tsunemithu, A. (1988) : Clinical application of tissue reflectance spectrophotometry to periodontal disease. *Adv. Dent. Res.*, **2**, 389-394.
 - 22) 零石 聰, 塙岡 隆 (1988) : 歯周疾患歯肉の反射スペクトル解析-歯肉ヘモグロビン量と酸素飽和度の計測. *歯科ジャーナル*, **28**, 599-606.
 - 23) Baab, D. A., Öberg, P. A. and Holloway, G.A. (1986) : Gingival blood flow measured with a laser Doppler flowmeter. *J. Periodont. Res.*, **21**, 73-85.
 - 24) 塙岡 隆, 永田英樹, 村上幸孝, 零石 聰 (1990) : ブラッシング後のヒト歯肉ヘモグロビン量と酸素飽和度の変化. *口腔衛生会誌*, **40**, 224-231.
 - 25) Miller, F. N., Collins, J. G. and Feldhoff, P.A. (1989) : Non-invasive intravital fluorescent microscopy of the hamster gingiva. *J. Periodont. Res.*, **24**, 261-266.
 - 26) Mayhan, W. G. and Joyner, W. L. (1984) : The effect of altering the external calcium concentration and a calcium channel blocker, verapamil, on microvascular leaky sites and dextran clearance in the hamster cheek pouch. *Micro. Res.*, **28**, 159-179.
 - 27) Brill, N. and Krassse, B. (1959) : Effect of mechanical stimulation on flow of tissue fluid through gingival pocket epithelium. *Acta Odont. Scand.*, **17**, 115-130.
 - 28) Phaneuf, E.A., Harrington, J. H., Dale, P. P. and Shklar, G. (1962) : Automatic toothbrush : A new reciprocating action. *J. Am. Det. Assoc.*, **65**, 12-25.
 - 29) Nuki, K. and Hock, J. (1974) : The organisation of the gingival vasculature. *J. Periodont. Res.*, **9**, 305-313.
 - 30) Hanioka, T., Amano, A., Inoshita, E., Tamagawa, H. and Shizukuishi, S. (1992) : Change in oxygen consumption in dog gingiva during induction of experimental periodontitis. *J. Dent. Res.*, **71**, 466-469.
 - 31) Lindhe, J., Hamp, S. E. and Löe, H. (1973) : Experimental periodontitis in the beagle dog. *J. Periodontal. Res.*, **8**, 1-10.
 - 32) Lindhe, J., Hamp, S. E. and Löe, H. (1975) : Plaque-induced periodontal disease in beagle dogs. *J. Periodontal. Res.*, **10**, 243-255.
 - 33) 石川 純, 片山 剛, 池田雅彦 (1973) : プラーカコントロールの意義とその効果. *日本歯科評論*, **370**, 1-9.
 - 34) Smukler, H. and Landsberg, J. (1984) : The toothbrush and gingival traumatic injury. *J. Periodontol.*, **55**, 713-719.

Association of Oxygen Tension in Human Periodontal Pocket with Gingival Inflammation*

Muneo Tanaka, DDS, Research Assistant

Takashi Hanioka, DDS, PhD, Assistant Professor

Keiko Takaya, DDS, Junior Resident

Satoshi Shizukuishi, DDS, PhD, Professor

Correspondence and reprint requests should be addressed to:

Dr. T. Hanioka

Department of Preventive Dentistry, Osaka University Faculty of Dentistry

1-8 Yamadaoka, Suita, Osaka 565, Japan

Fax: +81-6-879-2925

Short title: Oxygen tension in periodontal pocket

* Department of preventive dentistry, Osaka University Faculty of Dentistry, Osaka, Japan.

Abstract

The objective of this study was to investigate the association of the oxygen tension in the periodontal pockets with clinical parameters of gingival inflammation of the maxillary anterior teeth of 32 patients. The pocket oxygen tension (pO_2) was measured by a polarographic method with electronic compensation for temperature change. The oxygen saturation of hemoglobin (So_2) in the gingiva was determined with tissue reflectance spectrophotometry. Gingival crevicular fluid flow (GCF) was measured with electronic impedance. No significant association was found between pocket pO_2 and the modified gingival index, the plaque index and GCF. Pocket pO_2 showed significant correlation with pocket depth ($r=-0.57, p=0.0005$). Significant correlation was observed between pocket pO_2 and gingival So_2 ($r=0.69, p<0.0001$). When all variables were entered into a multiple regression model, only gingival So_2 had a significant independent effect on the pocket pO_2 ($p=0.0005$). These results indicate that the oxygen sufficiency in the gingiva has a significant independent influence on the pocket oxygen tension.

Key words: Periodontal pocket, Gingival inflammation, Partial oxygen pressure, Oxygen saturation of hemoglobin, Gingival crevicular fluid

INTRODUCTION

Subgingival anaerobic microorganisms are associated with destructive periodontal disease. *Bacteroides forsythus* and *Porphyromonas gingivalis* are positively associated with attachment loss¹. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Porphyromonas intermedius* are detected more frequently at progressing sites than at nonprogressing sites². These anaerobic bacteria differ in regard to their oxygen sensitivity³ and tolerance to the toxic effects of oxygen⁴.

A few studies have been published on the oxygen tension (pO_2) in periodontal pocket. A spectrum of pO_2 in deep pockets seems to define the pocket microbiological composition⁵. The pO_2 in untreated periodontal pockets was low, but it did not represent a completely anaerobic environment even in the deepest pockets of more than 10 mm⁶. Deeper pockets contain less oxygen than moderately deep sites. The correlation between the pO_2 level and pocket depth was significant but the correlation factor was low⁷. These findings suggest that oxygen in deep pockets may be supplied from gingival tissue.

Even though the amount of oxygen in the periodontal pocket may be the major factor affecting growth of anaerobic bacteria, little attention has been focused on the relation of clinical parameters to the oxygen supply to the periodontal pocket. In the development to a near anaerobic environment in a periodontal lesion, the oxygen supply from gingival tissue might influence the pO_2 level in the pocket, especially in a shallow pocket.

Tissue reflectance spectrophotometry has been used to measure hemoglobin oxygen saturation (S_o_2) non-invasively and repeatedly in the gingivae of dogs in

situ⁸. A lower So₂ was observed in inflamed gingiva and the gingival So₂ was negatively correlated with pocket depth⁹. These findings suggested that the insufficient oxygen supply in inflamed gingiva may influence the pocket oxygen environment. The objective of this study was to investigate the association of the pO₂ in the human periodontal pockets with clinical parameters of gingival inflammation including the So₂.

MATERIALS AND METHODS

Thirty-two medically healthy patients, at the Clinic of Preventive Dentistry, Osaka University Dental Hospital ranging in age from 28 to 68 years were selected. None of them had received periodontal treatment for the last 5 years. Informed consent was obtained prior to data collection.

On the first day of the study, we measured the probing pocket depth at the labial line angle of the anterior teeth of maxilla. The deepest site of more than about 4 mm was selected as an experimental site. Clinical assessment was made with the modified gingival index¹⁰ (MGI) and the plaque index¹¹ (PII). The gingival crevicular fluid flow (GCF) was determined with electronic impedance[†].

The patients were reexamined two weeks after the first examination for measurements of gingival So₂ and pocket pO₂. The So₂ was measured by using a tissue reflectance spectrophotometer[‡] as described previously⁹. The optical probe was placed in gentle contact with and perpendicular to the gingival surface in order to minimize the surface mirror reflection and to obtain diffusely reflected

[†] Periotron 6000, Harco Medical Electronics, Winnipeg, Canada.

[‡] TS-200, Sumitomo Electric Industries, Osaka, Japan.

light from the gingival tissue. The spectrophotometer recorded differences in absorption between a standard reference (halon white plate) and the tissue. Gingival SO_2 was calculated from differences in relative absorbance between the specific wavelengths of oxy- and deoxy-hemoglobin, and gingival tissue⁸. Ten reflectance spectra were measured at the experimental site and mean values were calculated from each spectrum.

Pocket pO_2 was determined with a polarographic method¹², using an amplifier[§]. A Teflon tube (0.4 mm diameter) including two sensors was used for determination of pocket pO_2 and temperature (Fig. 1). The active portion of both sensors is located at 0.3-0.4 mm from the tip. The combined polarographic oxygen/and temperature sensor was used to monitor change in pocket pO_2 following tooth brushing in dogs¹³. The pO_2 sensor was calibrated to the actual pO_2 in the atmosphere before every measurement. The calibration was conventionally made in a water bath which was bubbled with room air¹²⁻¹⁴. Since temperature differences between periodontal sites and the water bath may cause a shift from the actual pO_2 at a periodontal site, we employed an amplifier equipped with an electronic circuit for compensation of the temperature difference. The compensation was made with electrical current of both sensors using the Hedley-Whyte's method¹⁵. The temperature compensation was confirmed by measurement at different temperature in the water bath which was bubbled with room air. The pocket pO_2 was continuously monitored with a pen-recorder. When the sensor was carefully introduced into the pocket, the pocket pO_2 usually reached a constant level within 5 min. Measurement of reflectance spectra was performed

[§] POG-203. Unique Medical, Tokyo, Japan.

prior to the insertion of the pO₂ sensor because trauma from the insertion may cause an alteration of gingival microvascular function. Immediately after the monitoring of pocket pO₂, the level of the gingival margin was marked on the pocket pO₂ sensor and the length between the sensor tip and the marker (Sensor probing depth) was measured with a slide caliper to the nearest 0.1 mm.

The relationships between probing pocket depth and sensor probing depth, and between pocket pO₂ and the other variables, were examined with simple correlation coefficients. Since sensor probing depth was highly correlated with probing pocket depth ($r=0.99$, $p<0.0001$) and was determined more precisely than probing pocket depth, we employed the sensor probing depth as an indicator of pocket depth for further analyses. Based on the scores for the categorical variables of MGI or PII, the sites were summarized into two groups: sites with less inflammation or plaque (MGI or PII=0,1) and sites with higher scores. These groups were entered as binary dummies coded 0 and 1 for multiple regression analysis with pocket pO₂ as the dependent variable. Continuous variables were entered untransformed to maximize the amount of information. We did not include pocket temperature in the simple correlation analysis and the multiple regression analysis because the dependent variable, pocket pO₂, already incorporated the pocket temperature for the compensation of temperature change. These analyses were carried out using the StatView 4.0 statistical program[†].

RESULTS

Clinical assessment showed 10 sites with less inflammation (MGI=0,1) and 22

[†] Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA.

sites with more inflammation (MGI=2,3). No site exhibited score of 4 for the MGI. Less plaque (PLI=0,1) was observed at 21 sites and more plaque accumulation (PLI=2,3) was found at 11 sites. Table 1 shows descriptive statistics of the continuous variables at 32 sites. The sites showed shallow to deep pocket (3.9-9.2 mm). A wide range of GCF values (12.0 to 187.0) was observed. Gingival So₂ ranged from 52.5% to 81.3%, while pocket pO₂ varied from 6.7 mmHg to 52.0 mmHg. The pocket temperature ranged from 33.5°C to 36.9°C.

Table 2 shows the relationships between pocket pO₂ and each of the possible predictor variables. No significant correlation was found of the pocket pO₂ to the MGI, PLI and GCF. Pocket pO₂ was correlated negatively with pocket depth ($r=-0.57$, $p=0.0005$) and positively with gingival So₂ ($r=0.69$, $p<0.0001$). The correlation between pocket pO₂ and gingival So₂ was significant even in shallow pockets less than 6 mm deep (Fig. 2, $r=0.56$, $p=0.0133$, $N=18$).

Table 3 presents the results of the multiple regression analysis with pocket pO₂ as the dependent variable. MGI, PLI, pocket depth, GCF and gingival So₂ were entered as explanatory variables. The multiple regression analysis showed a significant relationship ($F(5,26)=7.59$, $p=0.0002$). The coefficient of determination was 0.515, indicating that the model explained 51.5% of the variation of the pocket pO₂. In the model, only gingival So₂ had a significant independent effect on the pocket pO₂ ($p=0.0005$).

DISCUSSION

The Clark principle of pO₂ measurement¹² is based on the electrochemical reduction of oxygen in a cell consisting of a noble metal cathode and a reference

anode both of which are electrically connected by an electrolyte and covered with an oxygen-permeable, hydrophobic membrane. When the potential applied between the cathode and anode is adjusted to a value within the limiting current plateau, the current measured between the two electrodes is proportional to the pO_2 in the adjacent medium. The medium provides the diffusion of oxygen through the membrane which limits the rate of oxygen transport to the cathode. If the oxygen supply from the medium to the cathode is not maintained, oxygen consumption by the electrode could result in a decrease of the actual pO_2 . In the present study, pO_2 usually reached a constant level within 5 minutes after the electrode was introduced into the periodontal pocket. Thus, the oxygen supply to the electrode from the adjacent medium was maintained.

Since the range of pocket pO_2 (6.7-52.0 mmHg) was comparable to venous blood pO_2 (20-40 mmHg)¹⁶, the oxygen seems to be supplied from the gingival tissue. The range of pocket temperature (33.5-36.9°C) corresponds with the results (33.4- 36.1°C) of recent study¹⁷. There is no measurable interference with the pO_2 measurement from CO_2 and pH in their physiologic ranges¹⁴. Since the active portion of the sensors was located at 0.3-0.4 mm from the tip, pocket pO_2 represents oxygen tension near the base of the pockets.

The amount of crevicular fluid absorbed in a paper strip during a constant time was determined with electronic impedance. The fluid contains oxygen molecules, and the amount of fluid may be related to the number of oxygen molecules released from the gingival tissue. Interestingly, GCF showed weak association with pocket pO_2 in the multiple regression analysis ($p=0.1791$). PII also showed weak association with pocket pO_2 ($p=0.1001$). Established plaque at the orifice of

the gingival pocket may induce an anaerobic environment in the pocket, although its influence may have been slight in the range of pocket depths examined in the present study.

A significant correlation was found between pocket pO_2 and pocket depth by simple correlation analysis, but the pocket depth did not influence the variation of the pocket pO_2 in the multiple regression model. These results indicated no direct relationship between pocket pO_2 and pocket depth. The influence of oxygen diffusion from pocket entrance into periodontal pocket would increase in sites with shallower pockets than were observed in the present study.

The SO_2 was the only one of the variables examined that showed an independent influence on the pocket pO_2 . The multiple regression analysis indicated that the model explained more than 50% of the variation of the pocket pO_2 . The unexplained 50% of the variation of pocket oxygen tension may be explained by oxygen consumption by the host's cells such as leukocytes and by reduction of oxygen metabolites produced by microorganisms in the periodontal pocket, as suggested previously⁷. Although removal of microorganisms and bacterial metabolites primarily facilitates improvement of the anaerobic environment in the periodontal pocket, increase in the oxygen sufficiency in the gingival tissue may also contribute to improvement of the periodontal environment.

In the present study, we employed MGI, PLI, GCF, pocket depth and gingival SO_2 as parameters of gingival inflammation. When these variables were entered into a multiple regression model, only SO_2 had a significant independent effect on the pocket pO_2 . This finding clearly demonstrates that oxygen sufficiency in the gingiva contributes to variation of oxygen tension in the periodontal pockets.

REFERENCES

1. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW et al. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol* 1994;65:260-267.
2. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology 2000* 1994;5:78-111.
3. Loesche WJ. Oxygen sensitivity of various anaerobic bacteria, *Appl Microbiol* 1969;18:723-727.
4. Amano A, Tamagawa H, Takagaki M, Murakami Y, Shizukuishi S, Tsunemitsu A. Relationship between enzyme activities involved in oxygen metabolism and oxygen tolerance in black-pigmented *Bacteroides*. *J Dent Res* 1988;67:1196-1199.
5. Loesche WJ, Gusberti F, Mettraux G, Higgins T, Syed S. Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated human periodontal pockets. *Infect Immun* 1983;42:659-667.
6. Mettraux G, Graf H. A new method to measure oxygen tension (pO_2) in human periodontal pockets. *Helv Odont Acta* 1981;25:38-42.
7. Mettraux GR, Busberti FA, Graf H. Oxygen tension (pO_2) in untreated human periodontal pockets. *J Periodontol* 1984;55:516-521.
8. Hanioka T, Shizukuishi S, Tsunemitsu A, Joh S, Sugiyama K, Sato N. Haemoglobin concentration and oxygen saturation in dog gingiva with experimentally induced periodontitis. *Archs Oral Biol* 34;1989:657-663.
9. Hanioka T, Shizukuishi S, Tsunemitsu A. Hemoglobin concentration and oxygen saturation of clinically healthy and inflamed gingiva in human subjects.

- J Periodont Res* 1990;25:93-98.
10. Lobene RR, Weatherford T, Ross RR, Lamm RA, Menaker L. A modified gingival index for use in clinical trials. *Clin Prevent Dent* 1986;8(1): 3-6.
 11. Silness J, Löe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964;22:121-135.
 12. Clark LC. Monitor and control of blood and tissue oxygen tensions. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1956;2:41-46.
 13. Tanaka M, Hanioka T, Kishimoto M, Shizukuishi S. Effect of mechanical toothbrush stimulation on gingival microcirculatory functions in inflamed gingiva of dogs. *J Clin Periodontol* 1998;25 (in press).
 14. Eberhard P, Fehlmann W, Mindt W. An electrochemical sensor for continuous intravascular oxygen monitoring. *Biotelemetry Patient Monitg* 1979;6:16-31.
 15. Hedley-Whyte J, Radford EP, Laver MB. Nomogram for temperature correction or electrode calibration during Po_2 measurements. *J Appl Physiol* 1965;20:785-786, 1965.
 16. Cuyton AC. Transport of oxygen and carbon dioxide in the blood and body fluids. In: *Textbook of medical physiology*. 5th ed. Philadelphia: Saunders; 1976: 543-556.
 17. Haffajee AD, Socransky SS, Goodson JM. Subgingival temperature (I). Relation to baseline clinical parameters. *J Clin Periodontol* 1992;19:401-408.

Table 1. Descriptive statistics for the continuous variables at 32 sites

Variables	Mean	\pm S.D.	Range
Pocket depth (mm)	5.5	\pm 1.4	3.9-9.2
Gingival crevicular fluid flow (device score)	90.2	\pm 52.7	12.0-187.0
Oxygen saturation of hemoglobin (%)	66.1	\pm 9.3	52.5-81.3
Pocket oxygen tension (mmHg)	27.2	\pm 11.2	6.7-52.0
Pocket temperature (°C)	35.8	\pm 0.9	33.5-36.9

Table 2. Relationships between pocket oxygen tension and each of the possible predictor variables.

Variables	Correlation	p-value
Modified gingival index	-0.25	0.1679
Plaque index	-0.05	0.7798
Pocket depth	-0.57	0.0005
Gingival crevicular fluid flow	-0.08	0.6720
Oxygen saturation of hemoglobin in gingiva	0.69	<0.0001

Pocket temperature was not included because pocket oxygen tension already incorporated the pocket temperature for the compensation of temperature change.

Table 3. Multiple linear regression analysis with pocket oxygen tension as the dependent variable (N=32)

	β	s.e.(b)	b	p value
Modified gingival index	-3.482	3.857	-0.147	0.3750
Plaque index	5.568	3.266	0.240	0.1001
Pocket depth	-0.995	1.487	-0.127	0.5091
Gingival crevicular fluid flow	0.047	0.034	0.220	0.1791
Oxygen saturation of hemoglobin	0.887	0.223	0.739	0.0005

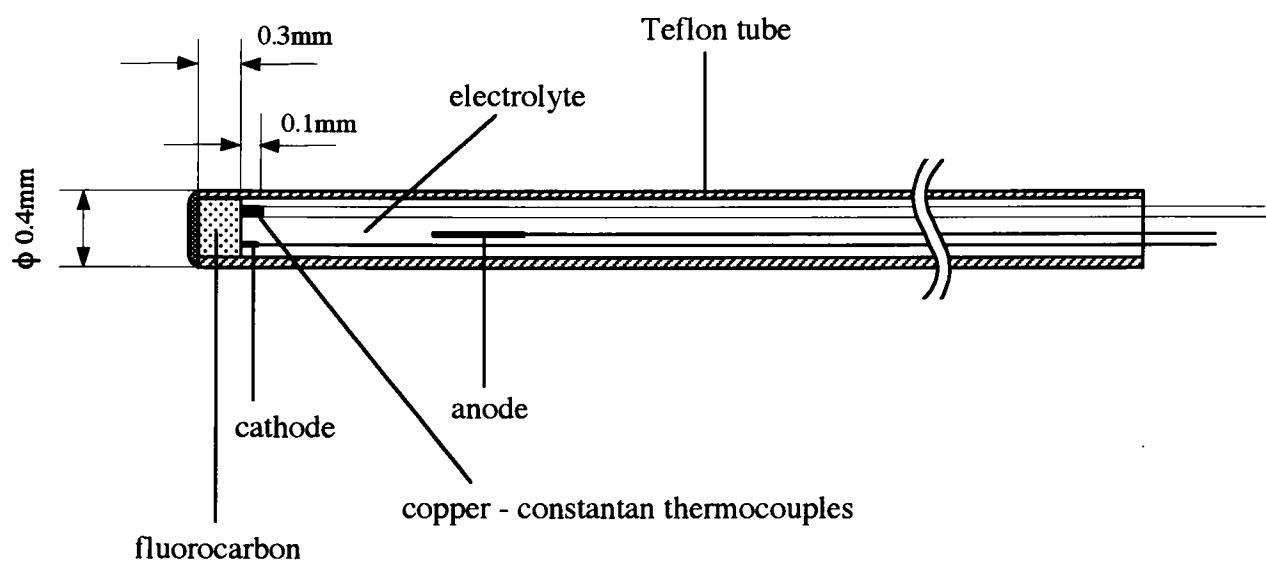
Pocket temperature was not included because pocket oxygen tension already incorporated the pocket temperature for the compensation of temperature change.

Legends to the Figures

Figure 1. Schematic diagram of the pocket oxygen microelectrode.

Figure 2. The relationship of pocket oxygen tension (pO_2) to the oxygen saturation of hemoglobin (S_o_2) in the gingiva at 32 sites. The closed circles are data derived from 18 sites with pocket depth of less than 6 mm ($r = 0.56, p=0.0133$).

Tanaka, Fig. 1



Tanaka, Fig. 2

