

| | |
|--------------|--|
| Title | インプラント上部構造ならびにインプラント体に付着したバイオフィルム除去に関する検討 |
| Author(s) | 大月, 基弘 |
| Citation | 大阪大学, 2018, 博士論文 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://doi.org/10.18910/69498 |
| rights | This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. |
| Note | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

学位論文

インプラント上部構造ならびにインプラント体に 付着したバイオフィルム除去に関する検討

大阪大学大学院歯学研究科

口腔科学専攻

顎口腔機能再建学講座

有床義歯補綴学・高齢者歯科学分野

大月 基弘

指導教員

大阪大学大学院歯学研究科

口腔科学専攻

顎口腔機能再建学講座

有床義歯補綴学・高齢者歯科学分野

池邊一典 准教授

緒言

インプラント治療は、現在では特殊な歯科治療ではなく、日常の治療の選択肢の一つであり、欠損歯科補綴治療に欠かせない存在になっている。多くの科学論文によりその長期生存率の高さ^{1,2}と患者満足度の大きさ³が示されており、本邦では50歳以降の患者の約3%にインプラント治療が適用されている⁴。しかし同時に様々な併発症が存在することも明らかとなっており、そのうちの 하나가生物学的併発症である。生物学的併発症には、感覚障害、オッセオインテグレーション獲得の失敗を示すインプラントの早期失敗 (Early implant failure), オッセオインテグレーションの喪失を示す後期失敗 (Late implant failure), そしてインプラント周囲疾患を含んでいる⁵。このインプラント周囲疾患の罹患率が、過去に考えられていた以上に高いことが、様々な臨床研究から明らかにされ⁶⁻¹²、近年、大きな問題として考えられるようになった。

インプラント周囲疾患は、インプラント周囲粘膜炎とインプラント周囲炎に大別される。インプラント周囲粘膜炎はバイオフィルムの付着によって引き起こされる粘膜炎に局限した炎症を示し、インプラントが機能したのち一年後のベースライン時とのエックス線検査の比較で骨喪失が認められず、かつプロービング時の出血 (BOP) が認められる状態を示す。一方、インプラント周囲炎はベースラインのエックス線写真と比較し、辺縁骨吸収が認められ、かつBOPもしくは排膿が認められる状態と定義されている¹³。またベースラインのエックス線写真がない場合は、ベースラインの辺縁骨の位置を予測

し、その位置から 2mm 以上の辺縁骨吸収と明確なインプラント周囲の炎症を伴えば、インプラント周囲炎と診断する¹⁴。

インプラント周囲疾患の主要因はバイオフィルムを構成する細菌である¹⁵⁻¹⁸。インプラント周囲粘膜炎は、インプラント上部構造の周囲粘膜縁上ならびに縁下部にバイオフィルムが付着すると起こり、除去することにより完治する、歯肉炎と同様の可逆性病変である。ところが病変が進行し、インプラント周囲炎を発症した状態では、インプラント体表面にバイオフィルムが付着しており、インプラント体表面からバイオフィルムを除去することで炎症は消退するが、喪失したインプラント周囲組織を完全に回復させることはできず、歯周炎と同様、不可逆性病変として考えられている。

それぞれの疾患の病理組織学的特徴として、インプラント周囲粘膜炎では、炎症性細胞がインプラント周囲の粘膜組織に限局しており、歯肉炎と同様の炎症細胞分布と炎症性細胞浸潤の大きさを示す。またインプラント周囲ならびに歯の周囲の接合上皮は約 2mm で、結合組織は約 1mm とほぼ同じである¹⁹。

ところが歯周炎と比べてインプラント周囲炎は、多核白血球細胞とマクロファージ、そして形質細胞が多く、炎症性細胞浸潤が大きい、より急性的な炎症像を呈することが特徴である。歯周炎では約 1mm の炎症のない結合組織層で炎症性細胞浸潤は骨から隔てられているのに対し、インプラント周囲炎では、炎症性細胞浸潤が骨にまで至る。

そして多くの場合、インプラント周囲炎では接合上皮底部に潰瘍がみられ、細菌が結合組織へ侵入する恐れが指摘されている^{17,20}。

Derksら²¹は、2765名のインプラント治療を受けた患者記録から、中等度から重度のインプラント周囲炎に罹患した患者53名の105本（平均機能年数8.6年）のインプラントを調べたところ、1年あたりの平均骨喪失量は約0.4mmであった。歯周炎に罹患している患者1年の平均骨喪失量は0.05～0.3mmであり、両者の疾患の進行速度に違いを認めた。またインプラント周囲炎の発症時点も評価しており、81%のインプラントが、機能後3年までに0.5mm以上の骨吸収を認めた。すなわちインプラント周囲炎は、多くの場合、早期に発症し、その進行速度は歯周炎よりも速いということになる。

臨床的に、インプラント周囲粘膜炎は、インプラント上部構造の周囲粘膜縁上、縁下部のバイオフィルムが適切に除去されれば、粘膜の炎症は消退し、BOPは陰性となり治癒する²²。インプラント周囲粘膜炎の段階で疾患をコントロールできれば問題はないが、できなかった場合はインプラント周囲炎にまで進行する可能性がある。メンテナンス時にインプラント周囲をプロービングした際、同一部位でのBOP陽性が続く場合は、インプラント周囲疾患が進行する可能性が高くなることが、先行研究により示されており²³、インプラント周囲粘膜炎のコントロールの重要性が指摘されている。インプラント周囲粘膜炎がコントロールできずにインプラント周囲炎にまで進行してしまった場

合、外科的な方法でインプラント体表面を明示し、インプラント体表面からバイオフィルムを徹底的に除去することが大切である²⁴。

ところがインプラント周囲疾患に対し、バイオフィルムを徹底的に除去するための最適な方法がいままでのところ示されておらず^{25,26}、インプラント周囲粘膜炎ならびにインプラント周囲炎に対する適切な治療法を明らかにすることは急務と考えられる。インプラント周囲粘膜炎においては、どのような方法でインプラント上部構造の周囲粘膜縁下のバイオフィルムを除去すべきか分かっておらず、様々なセルフケアとプロフェッショナルケアの方法が提案されている。しかし、セルフケアでは電動歯ブラシが手動歯ブラシよりも炎症のコントロールとバイオフィルム除去において優れているという弱いエビデンス²⁷が存在するのみで、グルコン酸クロルヘキシジン配合洗口剤などでの洗口といった、化学的なアプローチは限定的な効果しかないことが示されている²⁶。またインプラント周囲炎に対しては、インプラント体表面を清掃するための外科的アプローチの有用性は示されているものの、どのような方法でインプラント体表面を清掃すれば良い治療結果が得られるかは不明であり²⁵、機械的清掃に加えて化学的な薬剤でインプラント体表面を清掃する有効性は低いことが示されている^{28,29}。現在、インプラント周囲疾患において、定量的にどの程度バイオフィルムを除去すれば、治癒するかは明らかではないが、過去の臨床研究によりバイオフィルムを除去すると、インプラント周囲疾患が軽快することが示されている^{24,25}。したがってバイオフィルムをより効果的に除

去できる方法を模索することは重要であると考えられる。

そこで本研究では、インプラント周囲疾患を引き起こす主因子であるバイオフィルムを、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部ならびにインプラント体表面から機械的に除去する方法を明らかにするため、顎模型上の様々な部位、深さに埋入されたインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部に付着させた疑似プラークの清掃効果に関する検討、ならびに実際のインプラント体上に付着させた、ヒト口腔バイオフィルムの除去効果に関する検討を行った。

実験1

顎模型上のさまざまな部位，深さに埋入されたインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部に付着させた疑似プラークの清掃効果に関する検討

1. 材料と方法

1) 顎模型

下顎右側中切歯，第二小臼歯，第二大臼歯部にスクリュー固定式の上部構造が装着できるインプラントレプリカ（ノーベル・バイオケア社，バーゼル，スイス）（中切歯部：直径 3.5mm，小，大臼歯部： 4.3mm）を埋入した顎模型（MIP-3，プロアート社，京都）（図 1-1, a, b）を製作し，通常 of 骨縁埋入ならびに，深部埋入された 2 つの顎模型を用意した（図 1-1, c）. 模型をマネキンシミュレーター（シンプルマネキンⅢ，ニッシン社，京都）に装着，デンタルチェアに固定し，実際の臨床的状況を可能な限り再現するようにした（図 1-1, d）.

2) インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部への疑似プラークの付着方法

インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部に，ステアリン酸マグネシウム粉末（オクルード，パスカル社，ハーグ，オランダ）を疑似プラークとし，底面に対して垂直に 2 秒間，疑似プラークが均一な厚み（約 50 μ m）で付着するように吹き付け，その後インプラントレプリカにスクリュー固定した（図 1-2）.

3) 使用清掃器具 (図 1-3)

歯ブラシは、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部への到達性が、スタンダードな歯ブラシよりも高く、毛先が粘膜縁下に届きやすいもの (GUM PRO'S デンタルブラシ #3C, サンスター社, 大阪) を選択した。歯間ブラシは、通常のシリンダー型やテーパー型よりも、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部への到達性が高いバレル型 (バトラーデュアルアングル歯間ブラシ M サイズ, サンスター社, 大阪) を採用した。デンタルフロスは、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部でのプラーク除去率が、通常のデンタルフロスより高いもの (バトラーイーゼースレッドフロス, サンスター社, 大阪) を選択した。それぞれの使用清掃器具は、予備実験にて、他の同種の清掃器具よりも、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部で、疑似プラーク除去効果が最も高いことを確認した上で決定した。

4) 清掃実施者

清掃実施者は、インプラントメンテナンス経験 3 年以上 (7.0 ± 3.0 年 (平均 \pm 標準偏差, 以下同様)) の歯科衛生士 8 名 (年齢 34.1 ± 3.9 歳) とした。

5) 実験方法

前述の歯科衛生士が、インプラント上部構造の粘膜縁下部に付着させた疑似プラークを

1. 歯ブラシのみ (60 秒)

2. 歯ブラシ (30 秒) + 歯間ブラシ (30 秒)

3. 歯ブラシ (30 秒) + デンタルフロス (30 秒)

のそれぞれの方法で、各 1 回清掃を行った。清掃の順番は、下顎中切歯-下顎第二小臼歯-下顎第二大臼歯の順で、3 つの方法 (図 1-4) と 2 つの埋入深度をランダム割付けにより組み合わせて決定した。清掃後、インプラント上部構造を外し、底面を規格撮影した (図 1-5)。

6) 画像解析ならびに計測 (図 1-6)

画像解析ならびに計測は、どの清掃方法群、深度群で清掃されたか盲検化された 1 名の試験者が行った。清掃後、スクリュー固定式の上部構造底面から歯科用デジタルカメラ (アイ・スペシャル C-II, 松風社, 京都) にて規格撮影を行い、画像解析により解析対象範囲 (インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部) を抽出した。色差補正後、疑似プラークが残存している部位と除去された部位とを 2 階調化し、疑似プラークが除去された面積を画像解析ソフト (Adobe photoshop Element 5.0, アドビシステムズ社, 東京) を用いて算出した。

また、試験者の疑似プラーク計測に再現性があるかを調べるため、計測者内信頼性の検討に級内相関係数 case1 (ICC case1: Interclass Correlation Coefficient case1) を用いた。統計解析には SPSS (Ver 23.0, 日本 IBM 社, 東京) を用い、有意水準は 5%とした。単一測定値を使用した場合の信頼性は $ICC(1,1) = 0.922$ であった。このこ

とから疑似プラーク除去率を測定する場合, 1 名の計測者が計測した 1 回の値で十分な信頼性を有することが示された.

7) 統計解析

疑似プラークの除去率については, Kolmogorov-Smirnov の正規性の検定と Levene 検定にて各群で正規性と等分散性が認められた. そこで一元配置分散分析を行ったのち, 多重比較のために Tukey の HSD 検定を行った. また埋入深度の違いによる疑似プラーク除去率の比較については, Student の T 検定にて群間比較を行った. 統計解析には SPSS (Ver 23.0, 日本 IBM 社, 東京) を用い, 有意水準は 5%とした.

2. 結果

1) 清掃方法の違いによる疑似プラークの除去率 (図 1-7)

埋入部位, 深度にかかわらず, 歯ブラシ単独群の疑似プラーク除去率は, 最も低かった. 歯間ブラシ併用群は, 歯ブラシ単独群と比較して埋入部位, 深度にかかわらず, 疑似プラーク除去率に有意な差を認めなかった. またデンタルフロス併用群は, 歯ブラシ単独群と比較して埋入部位, 深度にかかわらず, 疑似プラーク除去率が高く, 有意な差を認めた. 第二大臼歯部では, 埋入深度にかかわらず, デンタルフロス併用群は, 歯間ブラシ併用群と比較して疑似プラーク除去率が高く, 有意な差を認めた.

2) インプラント体の埋入深度の違いによる疑似プラーク除去率 (図 1-8)

歯ブラシ単独群ならびに歯間ブラシ併用群は, 埋入深度の違いによる疑似プラーク除去率に有意な差を認めなかった. 一方でデンタルフロス併用群は, 中切歯部において, 疑似プラーク除去率は, インプラント体の埋入深度の違いによる有意な差を認めなかったが, 臼歯部では, 疑似プラーク除去率が深部埋入群で, 通常埋入群と比較し低く, 有意な差を認めた.

実験 2a

実際のインプラント体上に付着させたヒト口腔バイオフィルムの、様々な清掃方法による清掃効果の違いに関する検討

1. 材料と方法

1) 研究参加者

11名の健常有歯顎者（女性2名，男性9名，年齢 31.3 ± 4.6 歳）を研究参加者とした。包含基準は疾患がなく心身ともに健康である者，第一大臼歯を含む24本以上の歯を有し不適合補綴装置がない者，歯周炎に罹患していない者（アタッチメントロスと歯槽骨の吸収にともなう，BOP陽性部位がない³⁰⁾），研究期間中に歯科治療を受けていない者，6か月以上喫煙をしていない者，6か月以上抗菌薬を服用しておらず，マウスリンスなどの使用がない者と設定した。

なお，本実験は大阪大学大学院歯学研究科および歯学部附属病院倫理審査委員会の承認を得て行った（H26-E36）。そして，すべての研究参加者に，実験の趣旨や方法について事前に説明を行い，参加の同意を得た。

2) 使用インプラント体（図 2-1）

標準的なデザインを有する代表的なインプラント体として，マイクロスレッドとマクロスレッド機構，ならびに中等度の粗造表面（Sa 値： $1 \sim 2 \mu\text{m}$ ）を有するインプラント体

(Aadva インプラント, ジーシー社, 東京) を選択した. また, マウスピースにインプラント体を固定しバイオフィルムを付着させる実験で, 予想される併発症としては潰瘍形成がある. これはマウスピースにチタンディスクを固定し, バイオフィルムを付着させるモデルを用いた先行研究でも, 頬粘膜に軽度の潰瘍形成があったと報告がある. そのため使用可能なサイズで最も細く, 短いインプラント (直径 3.3mm, 長さ 8mm) を選択し, 併発症の予防に努めた.

3) 実験用マウスピース (図 2-2)

インプラント体表面にバイオフィルムを付着させるため, 研究参加者の上顎に実験用マウスピース (パラプレスバリオ, ヘラウスクルツァー社, ヴェルハイム, ドイツ) を製作し, 装着時に違和感や痛みなどが無いように咬合調整を行った. その後, カバースクリューを装着した合計 5 本のインプラント体を, マウスピースの両側に固定した. 固定方法は, あらかじめ製作した直径 5mm, 高径 1.5mm の即時重合レジン製のキャップ (ユニファーストⅡ, ジーシー社, 東京) でインプラントの上端と下端を挟み, マウスピースに咬合平面に対してインプラント体が垂直になるように固定し, 全面にバイオフィルムが付着するようにした.

4) インプラント体の清掃方法 (図 2-3)

生理食塩水含浸ガーゼ (滅菌ケーパイン No. 7165, カワモト社, 大阪), 超音波スクレーパー (スプラソン P-MAX, サテレック社, ボルドー, フランス, チップ:インプラントプ

ロテクト IP3L/R, 出力:P モード 5), エアーアブレーション (エアフローマスターピエゾン, EMS 社, ニヨン, スイス, 使用パウダー:エアフローペリオパウダー (成分:グリシン, 平均粒径:25 μ m), ノズル:ペリオフローノズル, 出力:100%中, 水量 100%, エアー圧 75%), 金属製回転式ブラシ (iBrush, ネオバイオテック社, ロサンゼルス, アメリカ, 回転数:1500rpm) の4種類の清掃方法を設定した. これらの清掃方法は, これまでの先行研究で, インプラント周囲炎治療に使用されている代表的な方法とメーカー推奨の使用条件を選択した^{28,31-33}. またコントロール群として非清掃群を設定した.

5) 実験方法

研究参加者は食事中とブラッシング時を除き, 4日間, 終日, 実験用マウスピースを装着した. バイオフィルムを付着させる期間は先行研究³⁴を参考に決定した. 4日後に, インプラント体を注意深く除去し, 前述の4つの清掃方法とコントロールの5群に5本のインプラント体をランダムに割り当てた.

インプラント体からカバースクリューを外し, インプレッションコーピングスクリューを装着後, インプラント体を直立するように保持しながら, それぞれの方法で1分間の清掃を行った (図 2-3). 清掃はインプラント周囲炎治療の経験があり, それぞれの清掃方法を習熟している1名の歯科医師が担当した. 清掃後, カバースクリューを再度装着し, リン酸緩衝生理食塩水 1ml 中にインプラント体を保存した. 研究参加者1名からの清掃後のインプラント体 (計5本) は, 走査型電子顕微鏡 (SEM) (JSM-6390LVZ, 日本

電子社, 東京) によるインプラント体表面の観察に使用した. また研究参加者 10 名からの清掃後のインプラント体 (計 50 本) は, 細菌培養法による生菌数の測定 (コロニー形成ユニット (CFU 数)) に使用した.

6) SEM による観察方法

リン酸緩衝生理食塩水 1ml 中に保存したインプラント体を, 2%グルタルアルデヒドに RPMI1640 を加えた溶液内に入れ, 室温で 1 時間固定した後, 蒸留水で洗浄した. 次にインプラント体を 100%t-ブチルアルコールで 3 回脱水を繰り返し, 凍結乾燥を行った. その後, インプラント体にプラチナ粒子の蒸着を行い, SEM によるインプラント体の観察を行った.

7) インプラント体表面の残存生菌数の測定

インプラント体表面の残存生菌数を検討するため, インプラント体をリン酸緩衝生理食塩水 1ml 中で 30 秒間懸濁し, その後 7 段階の連続希釈を行い, ブレインハートインフュージョン寒天培地 (ベクトンディッキンソン社, スパークス, アメリカ) にて培養を行った. インプラント体表面の残存生菌数を評価するために, コロニー形成単位 (CFU 数) を計測することとし, 培地を嫌気ジャーに 37 °C で, 24 時間保存し, 細菌を生育させた後に計測した.

8) 統計解析

清掃方法別の回収した残存生菌数の比較は、CFU 数を単位として行い、Kruskal-Wallis 検定ののち、多重比較検定として Steel-Dwass 法を用い、群間比較を行った。統計解析には R (Version 3.4.0 R Foundation for Statistical Computing, ウィーン, オーストリア) を用い、有意水準はそれぞれ 5% に設定した。

2. 結果

1) SEM による観察

マイクロスレッド部 (図 2-4)

低倍率 (×35) ならびに中倍率 (×100) では, マイクロスレッド部全域で生理食塩水含浸ガーゼの清掃性が高く, 他の清掃方法よりバイオフィルムの残存が少ないことが観察された. 一方で超音波スケーラー, 金属製回転式ブラシでは, マイクロスレッド間にバイオフィルムの残存を認め, エアーアブレーションでは, 全体に薄くバイオフィルムの残存がみられた. 高倍率 (×5000) での観察では, どの方法でもバイオフィルムの残存が明確に認められたが, 生理食塩水含浸ガーゼで清掃した場合のバイオフィルム残存が最も少なかった.

マクロスレッド部 (図 2-5)

生理食塩水含浸ガーゼでは, 低倍率では縦溝部以外は清掃できているように見えるが, インプラント先端部にある縦溝部ではバイオフィルムの残存を認め, 中倍率でもバイオフィルムの残存が認められた. 超音波スケーラーでは, 低～中倍率でバイオフィルム残存を認めるが, 物理的にチップ先端が接触していると思われる部位では, 高倍率で筋状の痕が見られることが特徴で, バイオフィルムが除去できていた. エアーアブレーションでは, マイクロスレッド部と同様, 全域で薄くバイオフィルムの残存を認めた. また金属製回転式ブラシの清掃性が全域で高いことが観察された. 中, 高倍率での拡

大観察では、どの方法でもバイオフィルムの残存が明らかであったが、金属製回転式ブラシでのバイオフィルム残存が最も少なかった。

2) インプラント体表面清掃後の残存生菌数の比較 (図 2-6)

すべての清掃方法は、コントロールに比べ、インプラント体表面清掃後の残存生菌数が少なく、有意差を認めた。またエアーアブレーション、金属製回転式ブラシ、ならびに生理食塩水含浸ガーゼは、超音波スケーラーと比べ、残存生菌数が少なく、有意な差を認めた。

実験 2b

器具到達性の制限が、実際のインプラント体上に付着させたバイオフィルムの除去効果に与える影響に対する検討

実際の臨床においては、インプラント周囲炎の治療時、インプラント体への器具到達性を阻害する因子が多数存在する。例えば、患者の開口度、インプラント上部構造、骨欠損形態、出血、唾液などである。そのなかでも、器具到達性に影響を強く与える因子は骨欠損形態である³⁵。そこで本実験では、器具到達性の制限が反映された実験モデルを製作し、実験を行った。

1. 材料と方法

1) 研究参加者

5名の健常有歯顎者（男性5名、年齢 31.2 ± 4.7 歳）を研究参加者とし、包含基準は実験2aと同様とした。なお、本実験は大阪大学大学院歯学研究科および歯学部附属病院倫理審査委員会の承認を得て行った（H26-E36）。そして、研究参加者に、実験の趣旨や方法について事前に説明を行い、参加の同意を得た。

2) 使用インプラント体

実験2aと同様とした。

3) 実験用マウスピース

実験 2a と同様とし、6 本のインプラント体を固定した。

4) 器具到達性の制限方法 (図 2-7)

器具到達性制限モデルは、先行研究³⁵で示されているように、インプラント周囲炎に罹患した半数以上 (55.3%) のインプラント体周囲で、最もよくみられる囲繞性骨欠損形態と欠損幅 (1~2mm) を反映したものとした。また欠損深さは重度のインプラント周囲炎で一般的に認められる深さ^{35,36} (8mm) とした。インプラント体をインプレッションコーピングスクリューに接続、スキルドライバーで保持し、C クランプにて円筒の中央にインプラント体を固定した。インプラントの直径が 3.3mm で、欠損モデルの円筒の内径が 7mm ならびに高さ 8mm のため、本モデルが有する欠損幅は 1.85mm、そして欠損深さは 8mm である。

5) 実験方法

5 名の研究参加者が実験 2a と同じように、インプラント体を 6 本固定したマウスピースを装着した。それぞれの研究参加者からランダムに 1 本、SEM による観察に使用するインプラント体 (5 本) を選択し、実験 2a で用いた 4 種類の清掃方法とコントロールの 5 群に割り付けた。また、細菌培養法による残存生菌数の測定のため、それぞれの研究参加者から、残りのインプラント体 (5 本) を前述の 5 群にランダムに割り付けた。インプラント体からカバースクリューを外し、インプレッションコーピングスクリューを装着後、

前述の器具到達性制限モデルにインプラント体を固定し、安定した状態で清掃を行った。実験 2a と異なる点として、鋸引き動作（ソーイングモーション）による生理食塩水含浸ガーゼでの清掃が困難なため、直径約 2mm になるように丸めた滅菌ガーゼを使用した。そして生理食塩水に含浸後、ピンセットでガーゼを保持してインプラント表面の清掃を行った。他の清掃方法は実験 2a と同様に行った。清掃実施者は実験 2a と同じ 1 名の歯科医師が担当した。清掃後、カバースクリューを再度装着し、リン酸緩衝生理食塩水 1ml 中にインプラント体を保存した。

6) SEM による観察方法

実験 2a と同様とした。

7) インプラント体表面の残存生菌数の測定

実験 2a と同様とした。

8) 統計解析

実験 2a と同様、残存生菌数の比較は CFU 数を単位として行い、Kruskal-Wallis 検定の後、多重比較検定のため、Steel-Dwass 法を用い、群間比較を行った。統計解析には R (Version 3.4.0 R Foundation for Statistical Computing, ウィーン, オーストリア) を用い、有意水準はそれぞれ 5% に設定した。

2. 結果

1) SEM による観察

マイクロスレッド部 (図 2-8)

すべての清掃方法において、低倍率 (×35) であっても、バイオフィルムの残存を認め、清掃方法間での差を認めなかった。中倍率 (×100) から高倍率 (×5000) では、金属製回転式ブラシが他の方法よりもバイオフィルムが少なかった。一方で、他の清掃方法では中倍率から高倍率での観察により、清掃方法間ならびにコントロールとの差も認めなかった。

マクロスレッド部 (図 2-9)

金属製回転式ブラシが、低倍率から中倍率で他の方法よりもバイオフィルムが除去できていた。他の方法では低倍率から中倍率で多くのバイオフィルムの残存が観察された。高倍率での観察では、どの方法でもバイオフィルムの残存がはっきりと確認でき、コントロールを含め、清掃方法間で差を認めなかった。どの清掃方法においても、器具到達性が強く制限されるマクロスレッド部では、マイクロスレッド部と比べ、多くのバイオフィルムが残存していた。

2) それぞれの清掃方法によるインプラント体表面清掃後の残存生菌数の比較 (図 2-10)

コントロールと比較して、生理食塩水含浸ガーゼならびに金属製回転式ブラシでは、インプラント体表面清掃後の残存生菌数が少なく、有意な差を認めた。一方、コントロールと比較して、超音波スケーラーならびにエアージェットは、残存生菌数に有意な差を認めなかった。また、清掃方法間による比較では、残存生菌数に有意な差を認めなかった。

考察

実験 1 について

1. 実験方法について

1) 本実験モデルについて

本実験はインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部における 3 種類の清掃方法について、疑似プラークの除去率を比較することで器具の到達性を比較した。模型実験を行った背景としては、ヒトにおける *in vivo* で本実験と同様な実験を行うことが理想であるが、アバットメントの着脱によるインプラント辺縁骨吸収の可能性があるため^{37,38}、倫理的に困難であることが挙げられる。またインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部でのバイオフィーム除去に着目した研究がほとんどなく、プロフェッショナルケアにおける、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部への清掃方法を探ることの意義は大きいと考えられる。

本実験ではステアリン酸マグネシウム粉末を疑似プラークとし、各清掃器具の到達性を検討した。本粉末は付着性が高く、先行研究³⁹では歯ブラシによる清掃実験等にも使用されている。利点として、インプラント上部構造底面に付着させることが簡便で、器具到達性を比較することができる。しかし口腔バイオフィームのような粘性や除去の困難性はなく、清掃前後の細菌学的な検討などができないことが本実験の限界である。

近年、バイオリアクターと Robbins Device の 2 つの主要構造部をもつシステムで、数菌種のバクテリアを組み込んだ *in vitro* バイオフィルムモデルが構築できるようになった⁴⁰。インプラント上部構造底部にこのようなバイオフィルムを播種させることができれば、器具の到達性の評価だけでなく、清掃試験前後のバイオフィルムの量的、質的検討が可能となる。本研究の目的は、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部への器具到達性を比較検討することであり、ステアリン酸マグネシウム粉末を使用することは、本研究の目的から考えて妥当だと考えられたため、疑似プラークとしてステアリン酸マグネシウム粉末を用いる方法を採用した。また疑似プラークの厚みの設定については、インプラント周囲粘膜炎で認められる、偏性嫌気性菌を含むバイオフィルム形成が、7日までに約 50 μ m に達する^{41,42}ことから、予備実験で同程度の厚みが得られる噴霧時間を確認し、2 秒と設定した。

2) 顎模型および清掃対象部位について

顎模型には中切歯部、第二小臼歯部、第二大臼歯部にインプラントレプリカを埋入し、通常どおりに骨縁にプラットフォームを位置づけたモデルと、骨縁より 2mm 深部にプラットフォームを位置づけたモデルの 2 つの顎模型を用意した。これらは部位と埋入深度の違いによる、疑似プラーク除去に与える影響を比較するために設計したモデルである。下顎の顎模型を使用した理由として、上顎と比べ、中切歯、第二小、大臼歯の歯冠幅径の差が大きく、清掃効果の差がより顕著にみられると考えたためである。

シリコンで製作した疑似粘膜については、予備実験で、硬さの違いによる疑似プラークの除去率に与える影響を確認したところ、清掃後の疑似プラーク除去率に大きな影響を与えなかったため、生体の粘膜硬さに最も近いシリコン（型番:GL3, プロアート, 京都）を疑似粘膜として選択した。

3) 選択したインプラント体とインプラント上部構造について

インプラント体は、中切歯部:直径 3.5mm, 小, 大臼歯部:4.3mm のものを用いた。各インプラント直径の選択理由は、部位に応じた標準的なサイズであり、清掃対象部のインプラント上部構造歯頸部の近遠心的、頬舌的幅径にできるだけ近く、上部構造の底面形態をインプラント体のプラットフォームから各歯冠外形の豊隆に移行的に製作できるためである。また隣在歯との鼓形空隙が、他の人工歯部と同等になるようにインプラント上部構造を製作した。固定様式は、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部の疑似プラーク除去効果の確認を容易にするため、スクリュー固定式とした。

4) 使用清掃器具について

本研究では、患者が使用する清掃方法を検討するため、日常的に使われる歯ブラシ、歯間ブラシ、デンタルフロスを選択し清掃実験を行った。しかし、清掃実施者が歯科衛生士であるため、それぞれの清掃方法はプロフェッショナルケアの結果として評価される。プロフェッショナルケアとしての清掃効果を見ることは、その方法の最大効果を評価することとなるが、セルフケアでの効果の推定にも有用であると考えられる。

予備実験の結果から、それぞれの清掃器具を選択した。歯ブラシは、毛先が 3 本に分かれていて、先端が細く、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部に最も到達性が良いものを選択した。歯間ブラシは、円筒形、テーパー型、バレル型のなかで、最もインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部に到達性が高かったバレル型を選択し、どの清掃対象部位にも適合するサイズを採用した。またデンタルフロスは、通常のかすがデンタルフロスとインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部の清掃も考慮し、設計された、特殊ナイロンが付与されたデンタルフロスとを比較したところ、統計学的な有意差はないものの、特殊ナイロンが付与されたデンタルフロスの方が高い清掃効果を示したため、これを選択した。

5) 清掃実施者について

本研究の目的は、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部での清掃効果を評価することであり、同部を適切に清掃するためには、歯の清掃と異なる技術と知識を必要とする。そこで、日本口腔インプラント学会認定専門衛生士になるための条件の一つである、インプラントのメンテナンスに 3 年以上携わっている歯科衛生士 8 名を清掃実施者とした。

6) 実験方法について

清掃時間については、歯ブラシ、歯間ブラシ、デンタルフロスによる清掃時間を、インプラント 1 本について 30 秒と 60 秒で比較した予備実験で、疑似プラーク除去率

にそれぞれ有意な差を認めなかった。そこで、合計の清掃時間は1分間に統一し、歯ブラシ単独群（60秒）、歯ブラシ30秒に加えて歯間ブラシを30秒使用した群（歯間ブラシ併用群）、そして歯ブラシ30秒に加えてデンタルフロスを30秒使用した群（デンタルフロス併用群）の3群を比較することで、インプラントの周囲粘膜縁下部での歯間ブラシならびにデンタルフロスによる、疑似プラークの除去効果を検討した。

7) 疑似プラーク除去率の評価について

インプラント上部構造底面は平面ではなく、曲面であり、2次元的评价では本来の除去表面積を評価できない。これは本研究の限界と考えられる点である。しかし、それぞれの清掃方法による粘膜縁下部への到達度は、予備実験で、頬側、舌側、近心、遠心の4面を写真撮影し、本法と異なる方法でこれらの画像解析を行い、疑似プラーク除去率を算出しても、同様な結果が得られた。そこで、少なくとも相対的效果は評価できると考え、本法を採用した。

2. 実験結果について

1) 清掃方法の違いによる疑似プラーク除去率の比較

本実験の結果より、歯ブラシ単独でのインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部の清掃効果は他の方法よりも低く、効果的であるとはいえなかった。これまで、歯ブラシの

みの清掃では歯間部のプラークを効果的に除去することができないことが示されている⁴³ことから、歯ブラシ単独での清掃が推奨されることは考えにくい。

本実験での歯間ブラシ併用群では、歯ブラシ単独群と比較し、埋入部位、深度にかかわらず、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部の疑似プラーク除去率に有意な差を認めなかった。一方で、デンタルフロス併用群では歯ブラシ単独群と比較し、埋入部位、深度にかかわらず、疑似プラーク除去率が高く、有意な差を認めた。

歯間ブラシ併用群がデンタルフロス併用群よりも、疑似プラークの清掃効果で劣る理由として、実際の歯間ブラシの毛先が粘膜縁下部へ深く到達しないことが原因と考えられる。予備実験で疑似プラークの清掃効果が高かったバレル型の歯間ブラシでも、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部で、インプラント体付近までは清掃効果が及んでいなかった。これまでの先行研究では、インプラント部周囲のセルフケアにおいて、歯間部清掃の重要性は述べられているものの^{25,44} 具体的にどのような清掃方法で行うべきか明らかにされていない。Chongcharoen ら¹⁶ は、インプラント上部構造の周囲粘膜縁上部での歯間ブラシの清掃で、歯間部のプラークの残存率が著しく減少したことを示した。ただし、この先行研究ではインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部のバイオフィルム除去がどの程度であったかは検討されていない。一方で、この研究はインプラント上部構造粘膜縁下部にバイオフィルムが強固に付着する前に、日々の歯間ブラシによる清掃が重要であることを示している。

本実験で、今回採用したデンタルフロスが、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部の清掃に効果的であった理由として、デンタルフロスは合成繊維で構成され、糸状であり、歯ブラシや歯間ブラシと異なり、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部深部にまで到達することが可能である。Magnuson らの研究⁴⁵では、インプラント部のセルフケアとして1日2回の歯ブラシと1日1回のデンタルフロスを使用したグループのBOPを評価したところ、14日間で50%、30日間で33.3%のBOP減少率を認めた。この研究は、間接的ではあるが、1日1回のデンタルフロスの使用がインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部付近のバイオフィルム除去に効果的で、粘膜縁下部への到達性が高かったことを示唆している。

長期研究においては、Corbellaら⁴⁶が全顎固定性インプラント支持補綴装置を装着したメンテナンスプログラム中の61名の患者について述べている。最終補綴が装着された後、患者は歯ブラシと歯間ブラシ、そしてスポンジが付与されているデンタルフロスを使用し、セルフケアを行うよう指導された。デンタルフロスによる清掃対象部位は、インプラント体頸部ならびにインプラント上部構造の底面であった。プロフェッショナルケアでは、テフロン製のキュレットによるインプラント頸部の歯石除去、電動歯ブラシによる完全なプラーク除去、そして傾斜埋入されているインプラントの近遠心部ではデンタルフロスによる清掃が行われた。4年間のフォローアップ期間中、インプラント周囲粘膜炎症罹患率は、全インプラント中で10%程度であり、他の先行研究^{9,11}が示すよりも低

値で安定していた。またBOPとプラーク指数は、研究期間中、安定して低値を示した。この研究は、他のメンテナンスプログラムとの比較がないことが欠点である。しかし、メンテナンス期間のプログラムを具体的に示し、その後の臨床的パラメーターとの関連性を示した論文はほとんどなく、デンタルフロスをプロフェッショナルケアとセルフケアに組み込んだメンテナンスプログラムは、インプラント周囲疾患の予防のために有効であると考えられる。

本実験において、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部において、いずれの方法によっても疑似プラークを完全除去することはできなかった。全方法において共通していることは、インプラント体に近い深部ほど疑似プラークが残りやすく、歯ブラシ単独群と歯間ブラシ併用群では、インプラント体に近接した部位まで清掃することはできなかった。デンタルフロス併用群ではインプラント体に近接した部位まで清掃できていた場合もあったが、頬舌側に疑似プラークが近遠心部に比べると残存する傾向が認められた。したがって、清掃性の観点からは、できる限りインプラント上部構造を粘膜縁下部に設置しないことが望ましい。

本実験の結果と先行研究の結果を合わせて考えると、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部における清掃には、主にデンタルフロスの使用が有効であることが臨床的に示唆された。

2) インプラント体の埋入深度の違いによる疑似プラーク除去率について

下顎右側第二小臼歯部で、デンタルフロス併用群のみ、通常埋入群と比べ、深部埋入群で疑似プラーク除去率が低く、有意な差を認めた。歯ブラシや歯間ブラシは、もともと粘膜縁下部への到達性が低いため、通常埋入群と深部埋入群とを比較しても、疑似プラーク除去率に有意な差を認めなかった。

デンタルフロス併用群で、深部埋入群において器具到達性が低かった原因として、デンタルフロスのインプラント上部構造の周囲粘膜への干渉や臼歯部での可動性の低下といった要因が考えられる。深部埋入の是非については、未だに議論されている問題であるが⁴⁷⁻⁴⁹、多くの論文では辺縁骨吸収ならびに生物学的幅径について述べており、深部埋入における BOP ならびにプラーク指数に及ぼす影響を調べたものは少ない。Amri ら⁵⁰は、5 年間の後ろ向き研究から、単独歯インプラントについて、骨縁埋入群と骨縁下 2mm 埋入群での臨床的パラメーター (BOP, PPD) と免疫炎症性マーカー (IL-1 β , MMP-9) を調べた。その結果、どのパラメーターにも 2 群で有意差を認めなかった。BOP 値が両群とも約 10%と低値を示していることから、研究参加者は、1 年に 2 回のプロフェッショナルケアと、歯ブラシとデンタルフロスを併用するよう指示を受け、毎日のセルフケアに対するコンプライアンスが高いと思われる。これにより、深度による差がみられなかった可能性が考えられる。一方で Boynuegri ら⁵¹の 1 年間の前向き研究では、埋入深度、インプラントの種類組み合わせが異なる治療方法を 4 群に分類 (A. ストローマンスタンダードインプラント - 通常埋入, B. ストローマンスタ

ンダードインプラント - 1mm 深部埋入, C. ストローマンエステティックプラスインプラント - 通常埋入, D. ストローマンエステティックプラスインプラント - 1.8mm 深部埋入) し, 10 名の下顎無歯顎患者のオトガイ孔間に 4 本ずつのインプラントを埋入する際, おのおのの患者に A~D 群を割り付けた. インプラント周囲の臨床的パラメーターと炎症性サイトカインを調べたところ, 4 群中, 最も深部埋入された D 群で, 3, 6, 12 か月にわたり BOP 陽性率, インプラント周囲溝浸出液量, IL-1 β ならびに TNF- α レベルが, 通常埋入群と比べ高かった. 粘膜縁上のプラーク指数は群間で違いがみられなかったものの, インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部におけるバイオフィルムの付着については言及していない. この研究で BOP や炎症性マーカーが高かった理由として, インプラント体-アバットメント界面と骨の近接が挙げられているが, インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部での清掃状態は不明であり, バイオフィルムの付着が多い場合, インプラント体-アバットメント界面の位置の問題よりも炎症に寄与する影響は大きいと考えられる.

本実験では, インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部の清掃において, 小, 大白歯部で深部埋入は不利なことが示唆されたことから, 必要のない深部埋入は清掃性の観点からは避けるべきであると考えられる.

3) 術者による疑似プラーク除去率に与える影響について

デンタルフロス併用群-歯間ブラシ併用群-歯ブラシ単独群の順で、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部における疑似プラーク除去率は高かったが、デンタルフロスは技術依存性があることが示されているため⁴³、術者による疑似プラーク除去効果に与える影響を検討した。追加実験として、インプラントのメンテナンスに3年以上携わっている（メンテナンス経験 7.0 ± 3.0 年）歯科衛生士4名（年齢 30.5 ± 1.9 歳）を清掃実施者とし、本実験と同じ試験を5回繰り返した。術者による影響を調整するため、一般化推定方程式を用いて検討を加えた。埋入深度、埋入部位そして清掃方法が、インプラント周囲粘膜縁下部の疑似プラーク除去率に有意に関連することを確認した。その中でも、やはりデンタルフロス併用群は、術者による影響を調整した上でも疑似プラーク除去率との関連が大きいことが示され、その高い器具到達性が他の因子よりも疑似プラーク除去率に影響を与えたと考えられる。

3. 臨床的考察

インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部の疑似プラークを除去するには、デンタルフロスを併用して清掃することが効果的であった。臨床においてはインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部では、デンタルフロスの併用がインプラント周囲疾患の予防と治療に効果的であることが示唆された。しかし、デンタルフロスは小、大臼歯部のインプラント深部埋入群においては、器具到達性が低下した。デンタルフロスの周囲粘膜への干渉ならびに小、大臼歯部での可動性の低下といった要因が考えられるが、インプ

ラント上部構造の周囲粘膜縁下部の清掃性を優先する場合は、小、大臼歯部において、深部埋入を避けるべきであるということが臨床的に示唆された。

実験 2 について

1. 実験方法について

1) 研究参加者について

本研究の包含基準を満たした研究参加者は、実験 2a で 11 名（女性 2 名，男性 9 名，年齢 31.3 ± 4.6 歳），実験 2b で 5 名（男性 5 名，年齢 31.2 ± 4.7 歳）の健常有歯顎者であった。したがって，口腔内の状況がインプラント治療を受ける者の大多数を占める中年期以降の患者層とは異なり，歯肉ならびに粘膜縁上バイオフィルムの細菌数と細菌叢の違いがみられることも考えられる。Maki⁵²は出生直後から老年期にいたるまでの 14 の年齢集団，1127 名から，唾液中の各種菌数測定及び動態測定を行い，青年期（20～29 歳），壮年期（40～49 歳），そして老年期（60 歳～）の唾液中の菌数レベルに違いがみられないことを明らかにした。以上のことから，インプラント治療を受ける患者層の口腔内と，本研究参加者の口腔内の菌数レベルには著しい差がないと考えられる。細菌叢においては，*S.mutans*，*Lactobacilli*，そして *Actinomyces* は，青年期，壮年期よりも老年期において増加が認められ，本研究参加者とインプラント治療を受ける患者層の細菌叢では細菌分布が異なる可能性が高いことに留意すべきである。

口腔内細菌数レベルならびに細菌叢を変化させる要因を可及的に除くため，包含基準を設定した，健康状態が良好である必要性として，宿主免疫が正常であることが挙げられる。もし健康状態が不良であれば，宿主免疫の低下により，口腔細菌叢に影

響を与える可能性がある⁵³。また歯科的に問題を有していないこと（第一大臼歯を含む 24 本以上の歯を有し、不適合補綴装置がないこと、歯周病に罹患していないこと、研究期間中に歯科治療を受けていないこと）も健全な口腔細菌叢を有するのに必要である。喫煙者では口腔内の細菌叢が非喫煙者と異なることが先行研究で示されており⁵⁴、除外すべき因子と考えられる。また抗菌薬、洗口剤の使用も口腔内細菌叢の変化をもたらす因子となるため除外因子とした。

2) 実験材料について

本実験で使用したインプラント体は、サンドブラストと酸処理を施された中等度の粗造表面（Sa 値 1~2 μ m）を有し、マイクロスレッド部とマクロスレッド部を有していた。これは、現在使われているインプラント体の中でも一般的なデザインであるといえる。またマウスピースは、研究参加者の上顎模型から製作したものであり、4 日間、併発症を誘発することなく使用するために、注意深く調整された後、インプラント体を固定した。

実験 2a の間に、3 名の研究参加者が、マウスピース装着中、頬粘膜に小潰瘍の形成を経験したが、実験終了後数日で治癒し、日常生活に支障を認めなかった。

3) 本実験で使われたヒト口腔バイオフィルムの付着モデルの妥当性について

実際のインプラント周囲炎に罹患しているインプラント体に付着している細菌は多くの偏性嫌気性グラム陰性菌が主であり、*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium spp*, *Treponema denticola* 等、歯周病

原細菌と類似しているが，*Staphylococcus aureus*，*Enterococci*，*Aerobic Gram-negative bacilli* といった，歯周病では検出されることが少ない菌種がみられることも分かってきた³⁶．本実験におけるインプラント体に付着している細菌は，4日間で付着したバイオフィルムということを考えると，多くは通性嫌気性菌および好気性菌で構成されていると考えられる．つまりアーリーコロナイザーが主で，実際のインプラント周囲炎に罹患したインプラント体に付着した，より成熟し，多くの歯周病原菌を含むバイオフィルムではない．先行研究によると⁴¹，ハイドロキシアパタイトディスク上のバイオフィルムでは，最初の12時間で急速に総菌数が増加し，その後48時間まではゆっくりと増加し，それから72時間までの間で再び急速な増加を認め，72時間でプラトーに達し，バイオフィルムは2層性の増加を示した．菌種としては，16時間後までは *Firmicutes* 門が優勢で，その後48時間後に *Fusobacteria* 門及び *Bacteroidetes* 門の割合が増加した．属レベルでは *Streptococcus* 属が約20%を占めていたのに対し，48時間後以降では *Fusobacterium* 属，*Prevotella* 属，*Porphyromonas* 属などの偏性嫌気性菌が優勢となっていた．考察によると，通性嫌気性菌が増加すると，バイオフィルム内部が徐々に嫌气的環境になり，偏性嫌気性菌が増加したのではないかと考えられている．本研究では，4日間，インプラント体に付着させたバイオフィルムは好気性菌ならびに通性嫌気性菌が主だと考えられるが，先行研究の結果を鑑みると，バイオフィルムの成熟とともに，偏性嫌気性菌の一定量の存在も考えられる．

しかし現在まで、偏性嫌気性菌を主とした、ヒト口腔バイオフィルムをインプラント体に付着させる生体外実験モデルは確立されていない。単独細菌や数菌種を混合した疑似バイオフィルムなどが利用可能ではあるが、本研究では、インプラント体からバイオフィルムを除去する方法を比較検討することが主目的である。そのため粘着性が高く、除去が困難なヒト口腔バイオフィルムを、インプラント体に付着させるモデルを使用したことは、実際の臨床により近く、意義があると考えられる。

実験モデルには実際のインプラント体を使用し、バイオフィルムを付着させた。先行研究で使用されているチタンディスクや実際のインプラント体からかけ離れた形態のチタン材を使用せず、本実験モデルではチタンディスクの表面性状（表面粗さ、化学的な表面の改変）に加え、インプラント体のマクロデザイン（マイクロスレッド、マクロスレッド、先端部の縦溝等）がバイオフィルム除去に与える影響を評価できる。

バイオフィルムを付着させる期間ならびに方法は、Charalampakis ら³⁴の実験で、研究参加者がチタンディスクを固定したマウスピースを、本実験と同様の期間装着したモデルを参考とした。

4) 本実験で使用した清掃方法と清掃後のバイオフィルム除去における評価方法について

本実験では、先行研究^{28,31-33}にて報告された4種類の代表的な清掃方法を採用し、インプラント周囲炎に罹患したインプラント体の清掃を想定して実験を行った。生理食

塩水含浸ガーゼは清拭効果, 超音波スケーラーはチップ先端に伝わる振動とキャビテーション効果, エアーアブレーションはパウダーの吹付けで生じる衝撃力, そして金属製回転式ブラシはその刷掃効果により, インプラント体表面からバイオフィルムをそれぞれ異なる機序で除去する.

それぞれの出力ならびに設定については, 生理食塩水含浸ガーゼでは, ソーイングモーションで清掃できるような長さにガーゼを事前にカットした. 実験 2b ではソーイングモーションができないため, ガーゼを調整し, 直径約 2mm のペレット状になるように丸め, デンタルピンセットで保持して清掃を行えるようにした. また他の清掃方法では, 標準設定として, メーカー推奨の条件とした.

口腔内バイオフィルムをチタンディスク等に付着させたモデルでは, SEM による評価ならび細菌学的評価を行っているものが多い^{34,55,56}. 本研究では, 清掃方法の違いによって, バイオフィルムが除去可能な部位と程度, インプラント体表面での残存生菌数が異なることが考えられる. そこで, それぞれの清掃方法実施後の特徴を観察するため, インプラント体表面での質的評価を SEM による観察で行い, インプラント体表面に残った残存生菌数の量的評価を, 細菌培養法により残存生菌数を測定した. 本研究で形成されたバイオフィルムは, 好気性菌が主な構成菌であることから, ブレインハートインフュージョン寒天培地を用いた.

実験 2a からは, SEM による評価を 1 名の研究参加者からのサンプル (n=5), 実験

2bからは5名の研究参加者から1本ずつのサンプル(n=5)を用いて行った。実験2aのサンプルは、予備実験でコントロールのCFU数が中央値を示した参加者から採取した。また実験2bのサンプルは、すべての参加者から採取したものであり、それぞれのサンプルが有するCFU数にばらつきが見られることが考えられる。どちらの方法も欠点を有するものの、今回の目的である、それぞれの清掃方法におけるバイオフィルムの除去可能な部位と程度を観察し、評価を行うことは、サンプル数が少ないことを考慮しても意義はある。

残存生菌の測定については、インプラント体に付着したすべての細菌を回収し、PCR法などで検討することが理想であるが、現実的には不可能である。そこで懸濁時間を一定にし、インプラント体に付着しているバイオフィルムからの生菌を回収し、CFU数を計測することで、それぞれの清掃方法によるバイオフィルム除去効果の相対的評価は可能であると考え、本法を採用した。

2. 実験結果について

実験2a

実際のインプラント体上に生育したヒト口腔バイオフィルムの、様々な清掃方法による清掃効果の違いに関する検討

1) SEMによる観察評価

SEM による観察では、マイクロスレッド部全域で生理食塩水含浸ガーゼの清掃性が高く、他の清掃方法よりもバイオフィルムの残存が少ないことが観察された。これはガーゼの柔軟性により細部への接触度が上がり、マイクロスレッド間での清掃が困難な部位の清掃性が高まったのではないかと考えられる。しかしマクロスレッド部では、高倍率になると、バイオフィルムの残存が観察された。理由としてマクロスレッド部ではガーゼでの清掃の際、ソーイングモーションを行ったが、時折マクロスレッドにガーゼが引っかかることがあり、動きが制限され、バイオフィルムが残存した可能性がある。

超音波スケーラーでは、マイクロスレッド、マクロスレッド部のいずれにおいてもバイオフィルムが多く観察された。特にマイクロスレッド部ではスレッド間に多くの残存が認められた。今回、細い超音波スケーラーチップを採用したのは、この様な清掃が困難と考えられる場所にチップ先端を接触させ、バイオフィルムを効果的に除去することを期待したためであるが、1 分間の清掃では十分な効果を示すことができなかった。一方で、マクロスレッド間においてチップ先端が物理的に接触している場所ではバイオフィルムが除去されており、インプラント体の部位によっては、超音波スケーラーの効果が高い場所があることが示唆された。そこで追加実験を行い、清掃時間を 2 分間ならびに 3 分間に延長したところ（図 2-11, 2-12）、高倍率ではマイクロスレッド間にバイオフィルムの残存を認めたが、マクロスレッド部では、低～中倍率での観察により、バイオフィルムは、ほぼ除去できることが観察された。そして清掃部全域では清掃時間を 3 分まで

延長してもバイオフィルム除去に変化がみられなかった。一方で、マイクロスレッド間では、時間を延長してもバイオフィルムが残存していることが確認できた。本実験で採用した超音波スケーラーチップは、マイクロスレッド間にまでその先端が届き、バイオフィルムを除去するためにデザインされているものである。しかしマイクロスレッドのような微細構造を有する場所では、清掃時間にかかわらず、チップ先端が届かず、バイオフィルムを完全に除去することができないことが示された。

マイクロスレッドはインプラント体周囲の辺縁骨部で骨-インプラント接触率を改善し、応力集中を防ぎ、辺縁骨の保存に有用であることが示されている^{57,58}。しかしインプラント周囲炎が生じると、インプラント周囲辺縁骨が破壊され、インプラント上部に付与された機構は無効となる。本研究において、マイクロスレッドはインプラント体表面に付着したバイオフィルム除去の阻害因子となることが示唆された。

エアアブレーションでのバイオフィルム除去効果は限定的であり、マイクロスレッド、マクロスレッド部両方で薄く、全体的にバイオフィルムが残存していた。Louropoulouら⁵⁹の *in vitro* 研究を集めたシステマティックレビューによれば、プラスチックまたは金属製キュレット、金属製回転式ブラシ、超音波スケーラーを用いてバイオフィルムを除去したのち、上皮細胞、線維芽細胞また骨芽細胞様細胞を播種し、サンプルの生体適合性の回復度を検討したが、いずれの方法によっても、再度生体親和性を得ることは難しかった。一方で重炭酸ナトリウムをパウダーとして使用したエアアブレーション

は、他の方法よりも生体親和性を回復させることができたと報告している。また他の先行研究⁵⁹⁻⁶¹において、重炭酸ナトリウムならびにグリシンパウダーのどちらもバイオフィルム除去に効果があることが示されている。本法は、インプラント表面の変化を起こすことが少ないことが特徴といえるが、本実験ではバイオフィルムの残存が目立ち、先行研究とは異なる結果となった。この理由として、本実験は1分間という清掃時間を設定しているが、先行研究ではそれより長い時間で清掃しており、時間設定を変えることでバイオフィルムをより除去できる可能性がある。

金属製回転式ブラシではマクロスレッド間のバイオフィルムの残存を認めたが、マクロスレッド部での清掃効果が他の方法と比べ高かった。先行研究³³においても金属製回転式ブラシの有効性は示されており、効果の高い方法の一つとして考えられている。先行研究で報告されている金属製回転式ブラシ (TiBrush, Institute Strauman AG, バーゼル, スイス) は、インプラント体を清掃するブラシ先端部がチタン製であるが、チタン毛の弾力性が弱く、清掃性に劣ると考えられた。そのため、本実験で、先端径が小さく (先端部直径 2.3mm), 狭く、細い骨欠損部にも対応でき、チタン毛よりも弾力性が高いステンレス毛を有する iBrush を選択した。その結果、小さい先端部を持つ金属製回転式ブラシでも、マイクロレッド間のバイオフィルムを除去することはできなかったが、マクロスレッド間の清掃には適していた。ハンドピースに接続する本体部がプラスチックであり、適度な柔軟性を有することから、先端部のステンレス毛部がインプラン

ト体に弾かれることなく、多くの面積で接触できたことが原因と考えられる。またマイクロスレッド間の清掃にはさらに小さな先端径を有する金属製回転式ブラシが必要かもしれない。

2) 細菌培養法におけるインプラント体の残存生菌数の量的評価

インプラント体に付着した残存生菌数の評価について、すべての清掃方法が、コントロールと比べ、残存生菌数を減少させ、有意な差を認めた。また、生理食塩水含浸ガーゼ、エアアブレーション、金属製回転式ブラシでは、超音波スケーラーと比べ残存生菌数が少なく、有意な差を認めた。

様々な研究で生理食塩水含浸ガーゼによる清掃は検討されているが、本研究でもその有効性を認め、残存生菌数は、コントロールと比べ最も低値を示した。Widodoら⁶²によると、*Staphylococcus aureus*を播種したチタンディスク上を、生理食塩水含浸ガーゼで1分間の清掃を行ったところ、中等度の粗造表面 (Sa 値:1~2 μ m) を持つチタンディスクで 98.8%、機械研磨表面 (Sa 値:0.5~1 μ m) をもつチタンディスクで 99.9% の残存生菌を除去できることが示された。以上の結果より、生理食塩水含浸ガーゼでの清掃は、短時間で多くのバイオフィルムを除去できる効率のよい方法といえる。

超音波スケーラーは、他の方法よりもバイオフィルム除去効果が劣っていた。その理由として、チップの先端部が細く、細部の清掃に有効である反面、硬い金属製チップを清掃対象面に面接触させることが困難であることが挙げられる。点接触で清掃を行う

場合、1分という短時間では十分に清掃ができなかった可能性がある。先行研究⁶³では、超音波スケーラーを用い5分間の清掃を行うと、チタンディスク上から96%以上のバイオフィルムを除去できたことから、時間的な要素がバイオフィルム除去効果に与える影響を検討する必要があると考える。本研究においても追加実験を行い、超音波スケーラーでの2分清掃後のインプラント体の残存生菌数を1分清掃後と比較すると、さらに残存生菌が減少した。しかし、超音波スケーラーによる2分間と3分間の清掃群間では、インプラント体の残存生菌数において有意な差を認めなかった。すなわちSEMによる観察評価と同様、超音波スケーラーによる1分間の清掃（実験2aでの結果）では不完全であるが、2分間の清掃は、他の清掃方法とほぼ同等の結果が得られ、それ以上清掃時間を延長してもより大きな効果は得られないことが明らかとなった。したがって、超音波スケーラーはインプラント体のバイオフィルム除去において、清掃効果は他の方法と同等であるが、時間効率に劣る方法であるといえる。

エアアブレーションは、コントロールならびに超音波スケーラーと比較し、残存生菌数の減少率が高かった。Schmageら⁶³は、*Streptococcus mutans*を播種させたチタンディスク上を、プラスチックキュレット、カーボンキュレット、音波ブラシ、回転式ラバーカップ、ポリエチレンエーテルエーテルケトン樹脂(PEEK)チップを装着した音波スケーラー、PEEKチップを装着した超音波スケーラー、そしてグリシンパウダーを用いたエアアブレーションシステムの7つの方法で、5分間の清掃を行った。その結果、エアアブ

レーションシステムとPEEKチップを装着した2つのシステムでバイオフィルム除去率が高く、バイオフィルム残存率は4%以下であった。本実験においては1分間の清掃であったが、残存生菌率はほぼ同等の結果であった。本実験は1分間という短時間の清掃にもかかわらず、バイオフィルム除去率は先行研究と大きな差がないため、エアージェットも限られた時間で効率よくバイオフィルムを除去できる方法であると考えられる。

金属製回転式ブラシでも生理食塩水含浸ガーゼと同等のバイオフィルム除去効果が認められた。Johnら⁵⁶によると、口腔内で48時間、バイオフィルムを付着させたチタンディスクを、肉眼で除去できたと感じられるまで清掃を行ったところ、金属製キュレットでは約5分必要であったのに対し、金属製回転式ブラシでは約3分の清掃時間で、残存バイオフィルムも少なかった。バイオフィルムの付着期間と清掃時間が本実験とは異なるが、同様の結果が得られたことから、金属製回転式ブラシも、短時間で効率よくバイオフィルムが除去できる方法と考えられる。

3) インプラント体の残存生菌数の個体差による違いについて

研究参加者の違いによってコントロールの残存生菌数が異なり、インプラント体に付着するバイオフィルムの量には、個体差があることが示された。この差は、それぞれの研究参加者の免疫力や、生活習慣、プラークコントロールのレベルなど多因子の影響によるものと考えられる。またそれぞれの清掃方法による平均残存生菌数の減少率は、

ほぼ一定の傾向を示し, 清掃方法の効果は, 対象者が異なっても普遍性があると考えられる.

実験 2b

器具到達性の制限が、実際のインプラント体上に付着させたバイオフィルムの除去効果に与える影響に対する検討

1) SEM による観察評価

生理食塩水含浸ガーゼ、超音波スケーラーならびにエアアブレーションでは、マイクロスレッド、マクロスレッド部のどちらにおいても、多くのバイオフィルムが認められ、それぞれの清掃方法の特徴が認められなかった。これらの清掃方法では、器具到達性が制限されると、バイオフィルム除去程度に著しく影響を及ぼすことが示されたが、金属製回転式ブラシではその影響度が少なかった。その理由として、金属製回転式ブラシの先端径が小さく、器具到達性が制限されても、全域でインプラント体表面へブラシ先端が接触しやすかったことが考えられる。しかし、その金属製回転式ブラシでもマクロスレッド部を高倍率で観察すると、厚いバイオフィルムがみられたことから、臨床的に最も多く認められる囲繞性骨欠損においては、どの清掃方法でも器具到達性が阻害されると、完全な清掃は困難であることが示唆された。

2) 細菌培養法におけるインプラント体の残存生菌数の量的評価

コントロールと比較して、生理食塩水含浸ガーゼならびに金属製回転式ブラシでの清掃は、インプラント体での残存生菌数を減少させ、有意な差を認めたが、超音波ス

ケーラーとエアアブレーションでは、有意な差を認めなかった。また、清掃方法間ではインプラント体での残存生菌数において、有意な差を認めなかった。

生理食塩水含浸ガーゼによる清掃後の、インプラント体表面における残存生菌数は金属製回転式ブラシと同等の結果であった。ソーイングモーションの代わりに、デンタルピンセットで保持した生理食塩水含浸ガーゼペレットを用いて清拭動作をすることで、器具到達性の悪い場所でも清掃は可能であった。しかしペレット状のガーゼでの清掃では、器具到達性の制限に加えて、インプラント体へのガーゼの接触性が低くなるため、SEM による観察結果が実験 2a と異なり、多くのバイオフィルムの残存を認めた可能性がある。

本実験でも、清掃方法間で残存生菌数に有意差を認めず、実際のインプラント周囲炎の治療において、最も効果的な清掃方法が示されていない原因の一つとして、器具到達性が関係していることが本実験で示唆された。同様の報告として、Sahrmann ら⁶⁴は、深さ6mm、欠損底部から30度、60度、90度の広がりをもつ欠損モデルを製作した。そして金属製キュレット、超音波スケーラー、エアアブレーションの3種類の清掃方法にて、インプラント体に付着させた赤色インクをバイオフィルムに見立て、清掃したところ、30度の狭い欠損でより清掃効果が低かった。また Polak ら⁶⁵は、2種類の欠損深さ（3mm、5mm）の実験用モデルを用い、白色の修正液を除去する実験モデルを

製作した。そして超音波スケーラーの清掃効果を検討したが、深い骨欠損モデルでは、欠損底部に修正液の残存を認めた。

前述の2つの先行研究と本研究のモデルは異なるものの、器具到達性を制限することにより、バイオフィルムの除去程度は低下し、欠損底部になるほどバイオフィルムの残存を認めるという点で一致している。

3) 実験 2a と 2b の結果の比較

SEM 像の観察では、実験 2b において、マクロスレッド部で多くのバイオフィルムの残存を認めた。一方、残存生菌数の比較では、実験 2a と 2b のコントロールを含む 5 群の群間比較では、どの群においても統計学的に有意な差を認めなかった (Mann-Whitney U 検定, 有意水準 5%)。これは、インプラント体表面からバイオフィルムを除去することが、器具到達性の制限の有無にかかわらず困難であることを示している。しかし実験 2a と 2b ではサンプル数が異なり、比較には注意が必要である。

3. 臨床的考察

実験 2a,2b を通して、生理食塩水含浸ガーゼと金属製回転式ブラシが、残存バイオフィルムの除去効果が、器具到達性の制限の有無にかかわらず優れていた。また超音波スケーラーのバイオフィルム除去効率は低いが、時間をかければ他の清掃方法と同等の効果を得られることが示された。エアアブレーションは器具到達性の制限がある場合では、本来のバイオフィルム除去効果を発揮することができなかった。清掃方

法ならびに器具到達性の違いにより、バイオフィルムが除去可能な部位と程度が異なることから、それぞれの清掃方法に適した場所を理解しておくことが、良好な治療結果を得るために必要であると考えられる。現在のところ、定量的にどの程度バイオフィルムを除去すればインプラント周囲炎を軽快させることができるかは明らかではない。したがってバイオフィルムがより効率的に除去できる方法を選択し、清掃部位に応じて清掃方法を選択するのが望ましいと考えられる。

本研究の結果から、臨床的なインプラント表面の清掃方法について提案を行うとすれば、器具到達性に問題が少ない場合には、マイクロスレッド部で生理食塩水含浸ガーゼを用いて清掃し、マクロスレッド部で金属製回転式ブラシもしくは超音波スケーラーを使用する併用療法が考えられる。器具到達性が困難な場合には、全域で主に金属製回転式ブラシを用い、補助的に生理食塩水含浸ガーゼを用いるといった清掃方法が考えられる。

総括ならびに結論

本研究では、インプラント周囲疾患を引き起こす主因子であるバイオフィルムを、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部ならびにインプラント体表面から機械的に除去する方法の検討を行った。具体的には、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部に付着させた、疑似プラークの除去方法に関する研究ならびにインプラント体表面に付着させた口腔バイオフィルムの除去方法に関する研究を行った。これらの結果より以下の知見が得られた。

1. インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部における清掃方法を検討した結果、デンタルフロスの清掃効果が高かった。
2. 臼歯部においては、インプラント体が深部に埋入されている場合、デンタルフロスの清掃効果が低下した。
3. 生理食塩水含浸ガーゼならびに金属製回転式ブラシは、インプラント体に付着したバイオフィルムの清掃効果が高かった。
4. 器具の到達性を制限した場合、すべての清掃方法でバイオフィルムの清掃効果が低下したが、生理食塩水含浸ガーゼならびに金属製回転式ブラシは、低下が比較的少なかった。

以上のことから、インプラント周囲粘膜炎に対しては、デンタルフロスが、インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部の清掃に有効であり、インプラント周囲炎に対しては、生理食塩水含浸ガーゼと金属製回転式ブラシが、インプラント体に付着したバイオフィルムの清掃に有効であることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり，本研究を行う機会を与えて頂き，御指導，御高閲を賜りました顎口腔機能再建学講座有床義歯補綴学・高齢者歯科学分野 前田芳信特任教授に慎んで感謝の意を表します．また，本研究に際し，終始御理解と御協力を頂きました池邊一典准教授，和田誠大講師および大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能再建学講座有床義歯補綴学・高齢者歯科学分野教室員各位，そして多大な御尽力および多くの助言を頂きました口腔細菌学講座の川端重忠教授，山口雅也助教に心より御礼申し上げます．

文献

- 1 Jung RE, Pjetursson BE, Glauser R, Zembic A, Zwahlen M, Lang NP. A systematic review of the 5-year survival and complication rates of implant-supported single crowns. *Clinical Oral Implants Research* 2008; 19: 119-130.
- 2 Pjetursson BE, Thoma D, Jung R, Zwahlen M, Zembic A. A systematic review of the survival and complication rates of implant-supported fixed dental prostheses (FDPs) after a mean observation period of at least 5 years. *Clinical Oral Implants Research* 2012; 23 Suppl 6: 22-38.
- 3 Derks J, Håkansson J, Wennstrom JL, Klinge B, Berglundh T. Patient-reported outcomes of dental implant therapy in a large randomly selected sample. *Clinical Oral Implants Research* 2015; 26: 586-591.
- 4 厚生労働省. 平成28年 歯科疾患実態調査別添, 結果の概要 2017: 1-36.
- 5 Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *Journal of Clinical Periodontology* 2002; 29 Suppl 3: 197-212; discussion 232-233.
- 6 Fransson C, Lekholm U, Jemt T, Berglundh T. Prevalence of subjects with progressive bone loss at implants. *Clinical Oral Implants Research* 2005; 16: 440-446.
- 7 Roos-Jansaker AM, Lindahl C, Renvert H, Renvert S. Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part II: presence of peri-implant lesions. *Journal of Clinical Periodontology* 2006; 33: 290-295.
- 8 Koldslund OC, Scheie AA, Aass AM. Prevalence of peri-implantitis related to severity of the disease with different degrees of bone loss. *Journal of Periodontology* 2010; 81: 231-238.
- 9 Atieh MA, Alsabeeha NHM, Faggion CM, Duncan WJ. The frequency of peri-implant diseases: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology* 2013; 84: 1586-1598.

- 10 Derks J, Schaller D, Hakansson J, Wennstrom JL, Tomasi C, Berglundh T. Effectiveness of Implant Therapy Analyzed in a Swedish Population. *Journal of Dental Research* 2016; 95: 43-49.
- 11 Ogata Y, Nakayama Y, Tatsumi J, Kubota T, Sato S, Nishida T, Takeuchi Y, Onitsuka T, Sakagami R, Nozaki T, Murakami S, Matsubara N, Tanaka M, Yoshino T, Ota J, Nakagawa T, Ishhara Y, Ito T, Saito A, Yamaki K, Matsuzaki E, Hidaka T, Sasaki D, Yaegashi T, Yasuda T, Shibutani T, Noguchi K, Araki H, Ikumi N, Aoyama Y, Kogai H, Nemoto K, Deguchi S, Takiguchi T, Yamamoto M, Inokuchi K, Ito T, Kado T, Furuichi Y, Kanazashi M, Gomi K, Takagi Y, Kubokawa K, Yoshinari N, Hasegawa Y, Hirose T, Sase T, Arita H, Kodama T, Shin K, Izumi Y, Yoshie H. Prevalence and risk factors for peri-implant diseases in Japanese adult dental patients. *Journal of Oral Science* 2017; 59: 1-11.
- 12 Derks J, Tomasi C. Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *Journal of Clinical Periodontology* 2015; 42: S158-S171.
- 13 Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology* 2008; 35: 282-285.
- 14 Sanz M, Chapple IL. Clinical research on peri-implant diseases: consensus report of Working Group 4. *Journal of Clinical Periodontology* 2012; 39 Suppl 12: 202-206.
- 15 Zitzmann NU, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J. Experimental peri-implant mucositis in man. *Journal of Clinical Periodontology* 2001; 28: 517-523.
- 16 Chongcharoen N, Lulic M, Lang NP. Efficacy of professionally administered plaque removal with or without adjunctive measures for the treatment of peri-implant mucositis. A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology* 2015; 42: S202-S213.
- 17 Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljenberg B, Marinello C. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clinical Oral Implants Research* 1992; 3: 9-16.
- 18 Albouy JP, Abrahamsson I, Persson LG, Berglundh T. Implant surface characteristics influence the outcome of treatment of peri-implantitis: an

- experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* 2011; 38: 58-64.
- 19 Berglundh T, Lindhe J, Marinello C, Ericsson I, Liljenberg B. Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* 1992; 3: 1-8.
 - 20 Carcuac O, Berglundh T. Composition of human peri-implantitis and periodontitis lesions. *Journal of Dental Research* 2014; 93: 1083-1088.
 - 21 Derks J, Schaller D, Håkansson J, Wennstrom JL, Tomasi C, Berglundh T. Peri-implantitis – onset and pattern of progression. *Journal of Clinical Periodontology* 2016; 43: 383-388.
 - 22 Salvi GE, Aglietta M, Eick S, Sculean A, Lang NP, Ramseier CA. Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clinical Oral Implants Research* 2011; 23: 182-190.
 - 23 Luterbacher S, Mayfield L, Bragger U, Lang NP. Diagnostic characteristics of clinical and microbiological tests for monitoring periodontal and peri-implant mucosal tissue conditions during supportive periodontal therapy (SPT). *Clinical Oral Implants Research* 2001; 11: 521-529.
 - 24 Renvert S, Polyzois I, Claffey N. Surgical therapy for the control of peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research* 2012; 23 Suppl 6: 84-94.
 - 25 Renvert S, Polyzois IN. Clinical approaches to treat peri-implant mucositis and peri-implantitis. *Periodontology 2000* 2015; 68: 369-404.
 - 26 Jepsen S, Berglundh T, Genco R, Aass AM, Demirel K, Derks J, Fuguero E, Giovannoli JL, Goldstein M. Primary prevention of peri-implantitis: Managing peri-implant mucositis. *Journal of Clinical Periodontology* 2015; 42: S152-S157.
 - 27 Louropoulou A, Slot DE, Van der Weijden F. Mechanical self-performed oral hygiene of implant supported restorations: a systematic review. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice* 2014; 14 Suppl: 60-69.e1.
 - 28 Carcuac O, Derks J, Charalampakis G, Abrahamsson I, Wennstrom J, Berglundh T. Adjunctive systemic and local antimicrobial therapy in the surgical treatment of peri-implantitis: A randomized controlled clinical trial. *Journal of Dental Research*

- 2015; 95: 50-57.
- 29 Schwarz F, Schmucker A, Becker J. Efficacy of alternative or adjunctive measures to conventional treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Implant Dentistry* 2015; 22: 1-34.
- 30 Lindhe J, Ranney R, Lamster I, Charles A, Chung CP, Flemmig T, Kinane D, Listgarten M, L oe H, Schoor R, Seymour G, Somerman M. Consensus report: Chronic periodontitis. *Annals of Periodontology* 1999; 1: 38.
- 31 Serino G, Turri A. Outcome of surgical treatment of peri-implantitis: results from a 2-year prospective clinical study in humans. *Clinical Oral Implants Research* 2011; 22: 1214-1220.
- 32 Maximo MB, de Mendonca AC, Renata Santos V, Figueiredo LC, Feres M, Duarte PM. Short-term clinical and microbiological evaluations of peri-implant diseases before and after mechanical anti-infective therapies. *Clinical Oral Implants Research* 2009; 20: 99-108.
- 33 Guler B, Uraz A, Yalimm, Bozkaya S. The comparison of porous titanium granule and xenograft in the surgical treatment of peri-implantitis: A prospective clinical study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2016; 19: 316-327.
- 34 Charalampakis G, Ramberg P, Dahl en G, Berglundh T, Abrahamsson I. Effect of cleansing of biofilm formed on titanium discs. *Clinical Oral Implants Research* 2015; 26: 931-936.
- 35 Schwarz F, Herten M, Sager M, Bieling K, Sculean A, Becker J. Comparison of naturally occurring and ligature-induced peri-implantitis bone defects in humans and dogs. *Clinical Oral Implants Research* 2007; 18: 161-170.
- 36 Charalampakis G, Leonhardt A, Rabe P, Dahlen G. Clinical and microbiological characteristics of peri-implantitis cases: a retrospective multicentre study. *Clinical Oral Implants Research* 2012; 23: 1045-1054.
- 37 Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. The mucosal barrier following abutment dis/reconnection. An experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* 1997; 24: 568-572.

- 38 Becker K, Mihatovic I, Golubovic V, Schwarz F. Impact of abutment material and dis-/re-connection on soft and hard tissue changes at implants with platform-switching. *Journal of Clinical Periodontology* 2012; 39: 774-780.
- 39 上崎 聖子, 森 豊一, 田淵 由美子, 齊藤 徹. ブラッシングシミュレーターによる反転運動型電動歯ブラシの振動数と反転角の清掃性に及ぼす影響. *日歯周誌* 2005; 47: 161-167.
- 40 Blanc V, Isabel S, Sanchez MC, Llama-Palacios A, Herrera D, Sanz M, León R. Characterization and application of a flow system for in vitro multispecies oral biofilm formation. *J Periodontal Research* 2013; 49: 323-332.
- 41 Wake N, Asahi Y, Noiri Y, Hayashi M, Motooka D, Nakamura S, Gotoh K, Miura J, Machi H, Iida T, Ebisu S. Temporal dynamics of bacterial microbiota in the human oral cavity determined using an in situ model of dental biofilms. *npj Biofilms and Microbiomes* 2016; 2: 1-9.
- 42 Al-Ahmad A, Wunder A, Auschill TM, Follo M, Braun G, Hellwig E, Arweiler NB. The *in vivo* dynamics of *Streptococcus* spp., *Actinomyces naeslundii*, *Fusobacterium nucleatum* and *Veillonella* spp. in dental plaque biofilm as analysed by five-colour multiplex fluorescence *in situ* hybridization. *Journal of Medical Microbiology* 2007; 56: 681-687.
- 43 Wilder RS, Bray KS. Improving periodontal outcomes: merging clinical and behavioral science. *Periodontology 2000* 2016; 71: 65-81.
- 44 Wang Y, Zhang Y, Miron RJ. Health, maintenance, and recovery of soft tissues around implants. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2015; 18: 618-634.
- 45 Magnuson B, Harsono M, Stark PC, Lyle D, Kugel G, Perry R. Comparison of the effect of two interdental cleaning devices around implants on the reduction of bleeding: a 30-day randomized clinical trial. *Compendium Continuing Education in Dentistry* 2013; 34: 2-7.
- 46 Corbella S, Del Fabbro M, Taschieri S, De Siena F, Francetti L. Clinical evaluation of an implant maintenance protocol for the prevention of peri-implant diseases in patients treated with immediately loaded full-arch rehabilitations. *International Journal of Dental Hygiene* 2011; 9: 216-222.

- 47 Brogini N, McManus LM, Hermann JS, Medina R, Schenk RK, Buser D, Cochrane DL. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *Journal of Dental Research* 2006; 85: 473-478.
- 48 Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Schoolfield JD, Cochran DL. Biologic Width around one- and two-piece titanium implants. *Clinical Oral Implants Research* 2001; 12: 559-571.
- 49 Welander M, Abrahamsson I, Berglundh T. Subcrestal placement of two-part implants. *Clinical Oral Implants Research* 2009; 20: 226-231.
- 50 Amri Al MD, Alfadda SA, Labban NY, Alasqah MN, Alshehri FA, Al-Rasheed AS. Comparison of clinical, radiographic, and immunologic inflammatory parameters around crestally and subcrestally placed dental implants: 5-year retrospective results. *Journal of Prosthodontics* 2018; 27: 1-7.
- 51 Boynueğri AD, Yalimm, Nemli SK, Ergüder Bİ, Gökalp P. Effect of different localizations of microgap on clinical parameters and inflammatory cytokines in peri-implant crevicular fluid: a prospective comparative study. *Clinical Oral Investigations* 2011; 16: 353-361.
- 52 真木 吉継. 唾液中細菌叢の年齢的推移に関する生態学的研究. *口腔衛生学会雑誌* 1985; 35: 1-17.
- 53 Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontology 2000* 2010; 55: 16-35.
- 54 Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS, Scott DA. Mechanisms of action of environmental factors - tobacco smoking. *Journal of Clinical Periodontology* 2005; 32: 180-195.
- 55 John G, Becker J, Schwarz F. Rotating titanium brush for plaque removal from rough titanium surfaces - an in vitro study. *Clinical Oral Implants Research* 2014; 25: 838-842.
- 56 John G, Becker J, Schwarz F. Effectivity of air-abrasive powder based on glycine and tricalcium phosphate in removal of initial biofilm on titanium and zirconium oxide surfaces in an ex vivo model. *Clinical Oral Investigations* 2016; 4: 1-9.

- 57 Nickenig H-J, Wichmann M, Schlegel KA, Nkenke E, Eitner S. Radiographic evaluation of marginal bone levels adjacent to parallel-screw cylinder machined-neck implants and rough-surfaced microthreaded implants using digitized panoramic radiographs. *Clinical Oral Implants Research* 2009; 20: 550-554.
- 58 Abrahamsson I, Berglundh T. Tissue characteristics at microthreaded implants: an experimental study in dogs. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2006; 8: 107-113.
- 59 Louropoulou A, Slot DE, Van der Weijden F. Influence of mechanical instruments on the biocompatibility of titanium dental implants surfaces: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research* 2014; 26: 841-850.
- 60 Schwarz F, Ferrari D, Popovski K, Hartig B, Becker J. Influence of different air-abrasive powders on cell viability at biologically contaminated titanium dental implants surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials* 2009; 88: 83-91.
- 61 Schmage P, Thielemann J, Nergiz I, Scorziello TM, Pfeiffer P. Effects of 10 cleaning instruments on four different implant surfaces. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2012; 27: 308-317.
- 62 Widodo A, Spratt D, Sousa V, Petrie A, Donos N. An in vitro study on disinfection of titanium surfaces. *Clinical Oral Implants Research* 2016; 27: 1227-1232.
- 63 Schmage P, Kahili F, Nergiz I, Scorziello TM, Platzer U, Pfeiffer P. Cleaning effectiveness of implant prophylaxis instruments. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2014; 29: 331-337.
- 64 Sahrman P, Ronay V, Hofer D, Attin T, Jung RE, Schmidlin PR. In vitro cleaning potential of three different implant debridement methods. *Clinical Oral Implants Research* 2015; 26: 314-319.
- 65 Polak D, Maayan E, Chackartchi T. The impact of implant design, defect size, and type of superstructure on the accessibility of nonsurgical and surgical approaches for the treatment of peri-implantitis. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2017; 32: 356-362.

図表の説明

図 1-1: 実験 1 で使用した顎模型及びマネキンシミュレーター (シンプルマネキンⅢ, ニッシン社, 京都).

a) 本実験専用の顎模型 (MIP-3, プロアート社, 京都).

下顎右側中切歯, 第二小臼歯, 第二大臼歯部にインプラントが埋入されており, インプラントのサイズは下顎右側中切歯で直径 3.5 mm, 第二小臼歯, 第二大臼歯で直径 4.3mm (ノーベルリプレースセレクト・テーパード, ノーベル・バイオケア社, チューリッヒ, スイス). インプラント上部構造は陶材焼付鑄造冠とアバットメントが一体になっているスクリュー固定式であり, アバットメントの材質は純チタン製とした (ノーベルプロセラアバットメント, ノーベル・バイオケア社, チューリッヒ, スイス).

b) 清掃対象部位: インプラント埋入部における, インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部.

c) 通常埋入モデルと深部埋入モデル: 通常埋入モデルでは粘膜より約 3mm 下方で骨縁に合わせて埋入されており, 深部埋入では粘膜より約 5mm 下方で骨縁より約 2mm 深部に埋入されている.

d) 顎模型をセットしたマネキンシミュレーター（ニッシン，京都）をデンタルチェアに固定した状態．術者は患者を診る時と同様，デンタルチェアの高さを変えたり，マネキンを傾けたりすることが可能である．

図 1-2: インプラント上部構造底面に対して垂直に 2 秒間，疑似プラーク（オクルード，パスカル社，ハーグ，オランダ）を均一な厚み（約 $50\mu\text{m}$ ）に吹き付け，付着させた状態．

図 1-3: 使用清掃器具

GUM PRO'S デンタルブラシ #3C（サンスター，大阪）

歯間ブラシ: バトラーデュアルアングル歯間ブラシ サイズ M（サンスター，大阪）

デンタルフロス: バトラーイーゼースレッドフロス（サンスター，大阪）

図 1-4: 清掃方法の組み合わせ

インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部に付着させた疑似プラークの清掃は，下顎右側中切歯-第二小臼歯-第二大臼歯の順で行い，3 種類の清掃方法と 2 つの模型の組み合わせはランダム割付けを行った．

図 1-5: インプラント上部構造底面の規格撮影法

撮影器具: アイ・スペシャル C-II (松風社, 京都)

撮影モード: Standard, 撮影倍率:1.0, 撮影距離:約24cm, フォーカスモード:MF

図のように, 疑似プラークを清掃後, 外したインプラント上部構造を安定して同一位置に復位できる装置で固定し, インプラント上部構造底面に対して垂直にデジタルカメラを位置づけて撮影した.

図 1-6: 画像解析及び計測方法

インプラント上部構造の周囲粘膜縁下部 (黄色点線部) を合成し, 解析対象画像からカットし, 色差補正後, 疑似プラークが残存している部位と除去された部位とを 2 階調化し, 疑似プラーク部が除去された面積を算出後, 疑似プラーク除去率を画像解析ソフトを用いて計測した (Adobe photoshop Element 5.0, アドビシステムズ社, 東京).

図 1-7: 清掃方法の違いによる疑似プラーク除去率の比較

歯ブラシ, 歯間ブラシそしてデンタルフロスの, 清掃方法の違いによるインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部に付着させた, 疑似プラークの除去率の比較を行った.

図 1-8: 埋入深度の違いによる疑似プラーク除去率の比較

歯ブラシ、歯間ブラシそしてデンタルフロスの、埋入深度の違いによるインプラント上部構造の周囲粘膜縁下部に付着させた、疑似プラークの除去率の比較を行った。

図 2-1: 実験 2 で使用したインプラント

直径が 3.3mm, 長さが 8mm で, 中等度の粗造表面 (Sa 値:1~2 μ m) をもつ Aadva インプラント (ジーシー社, 東京) を使用した。

図 2-2: 実験用マウスピース

実験 2a では, カバースクリューを装着した合計 5 本のインプラント体を, 実験 2b では合計 6 本のインプラント体を両側に固定した。固定方法は, 製作した直径 5mm, 高径 1.5mm の即時重合レジン製のキャップ (ユニファースト II, ジーシー社, 東京) でインプラントの上端と下端を挟み, 即時重合レジンでレジンキャップをマウスピースに固定し, インプラント体の全面にバイオフィルムが付着するようにした。またインプラント体は咬合平面に対して垂直になるように固定した。

図 2-3: インプラント表面の清掃方法

- ・ コントロール (清掃なし)
- ・ 生理食塩水含浸ガーゼ (滅菌ケーパイン No.7165 , カワモト社, 大阪)

- ・ 超音波スケーラー（スプラソン P-MAX, サテレック社, ボルドー, フランス, チップ:インプラントプロテクト IP3L/R, 出力:P モード 5)
- ・ エアーアブレーション（エアフローマスターピエゾン, EMS 社, ニヨン, スイス, 使用パウダー:エアフローペリオパウダー, 成分:グリシン, 平均粒径:25 μ m, ノズル:ペリオフローノズル, 出力:100%中, 水量 100%, エアー圧 75%)
- ・ 金属製回転式ブラシ（iBrush, ネオバイオテック社, ロサンゼルス, アメリカ, 回転数:1500rpm)

図 2-4: SEM 像（マイクロスレッド部）35 倍, 100 倍, 5000 倍拡大像

図 2-5: SEM 像（マクロスレッド部）35 倍, 100 倍, 5000 倍拡大像

図 2-6: 清掃方法の違いによるインプラント体表面清掃後の残存生菌数の比較

コントロール, 超音波スケーラー, エアーアブレーション, 金属製回転式ブラシ, そして生理食塩水含浸ガーゼによる清掃後, 清掃方法の違いによるインプラント体表面の残存生菌数の比較を行った.

図 2-7: 器具到達性の制限方法

インプラント体をインプレッションコーピングスクリューに接続後, スキルドライバーで保

持し、C クランプにて内径 7mm の円筒の中央にインプラント体を固定した。この円筒によりインプラント体への器具到達性は制限されている（器具到達性制限モデル：水平的欠損幅 1.85mm, 垂直的欠損深さ 8.0mm）。

図 2-8: SEM 像（マイクロスレッド部）35 倍, 100 倍, 5000 倍拡大像

図 2-9: SEM 像（マクロスレッド部）35 倍, 100 倍, 5000 倍拡大像

図 2-10: 器具到達性の制限を与えた際の、清掃方法の違いによるインプラント体表面清掃後の残存生菌数の比較

器具到達性の制限を与え、コントロール、超音波スケーラー、エアアブレーション、金属製回転式ブラシ、そして生理食塩水含浸ガーゼによる清掃後、清掃方法の違いによるインプラント体表面の残存生菌数の比較を行った。

図 2-11: SEM 像（マイクロスレッド部）35 倍, 100 倍, 5000 倍拡大像

図 2-12: SEM 像（マクロスレッド部）35 倍, 100 倍, 5000 倍拡大像

図表



a) 顎模型

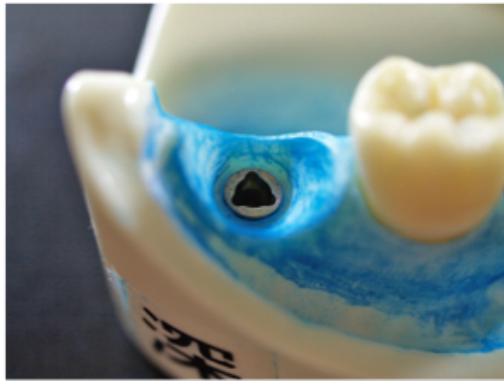


b) 清掃対象部位: 下顎右側中切歯, 下顎右側第二小臼歯, 下顎右側第二大臼歯部
における, インプラント上部構造粘膜縁下部

図 1-1: 実験1における顎模型とマネキンシミュレーター

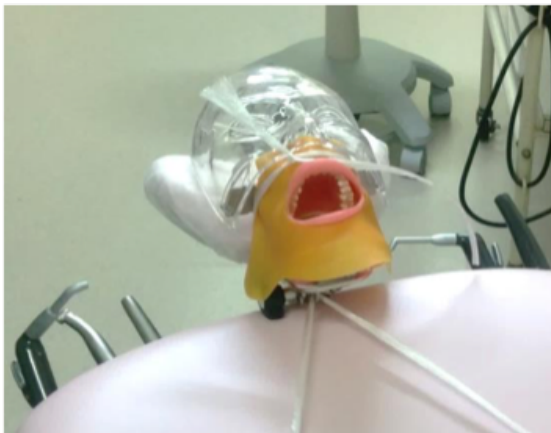


通常埋入モデル



深部埋入モデル

c) インプラント通常埋入と深部埋入モデル

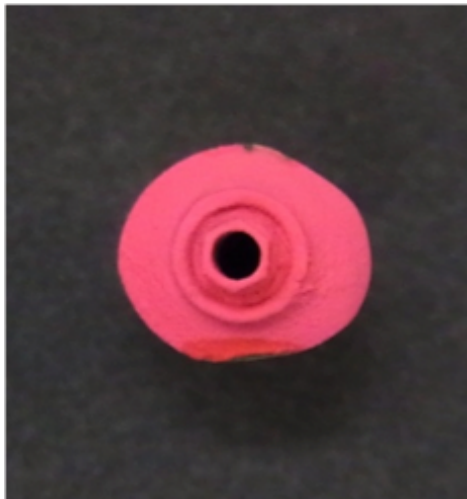


d) デンタルチェアに固定された顎模型装着済みマネキンシミュレーター

図 1-1: 実験 1 における顎模型とマネキンシミュレーター

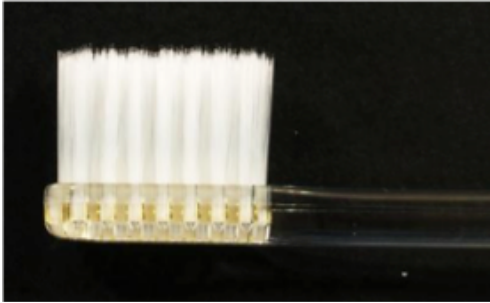


ステアリン酸マグネシウム粉末（オクルード，パスカル社，ハーグ，オランダ）

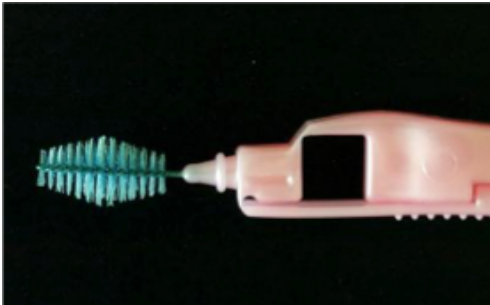


インプラント上部構造の底面から見た，疑似プラークを均一に付着させた状態

図 1-2: インプラント上部構造底面へ疑似プラークを付着させた状態



歯ブラシ: GUM PRO 'S デンタルブラシ #3C



歯間ブラシ: バトラーデュアルアングル歯間ブラシ サイズ M



デンタルフロス: バトラーイーゼースレッドフロス

図 1-3: 使用清掃器具

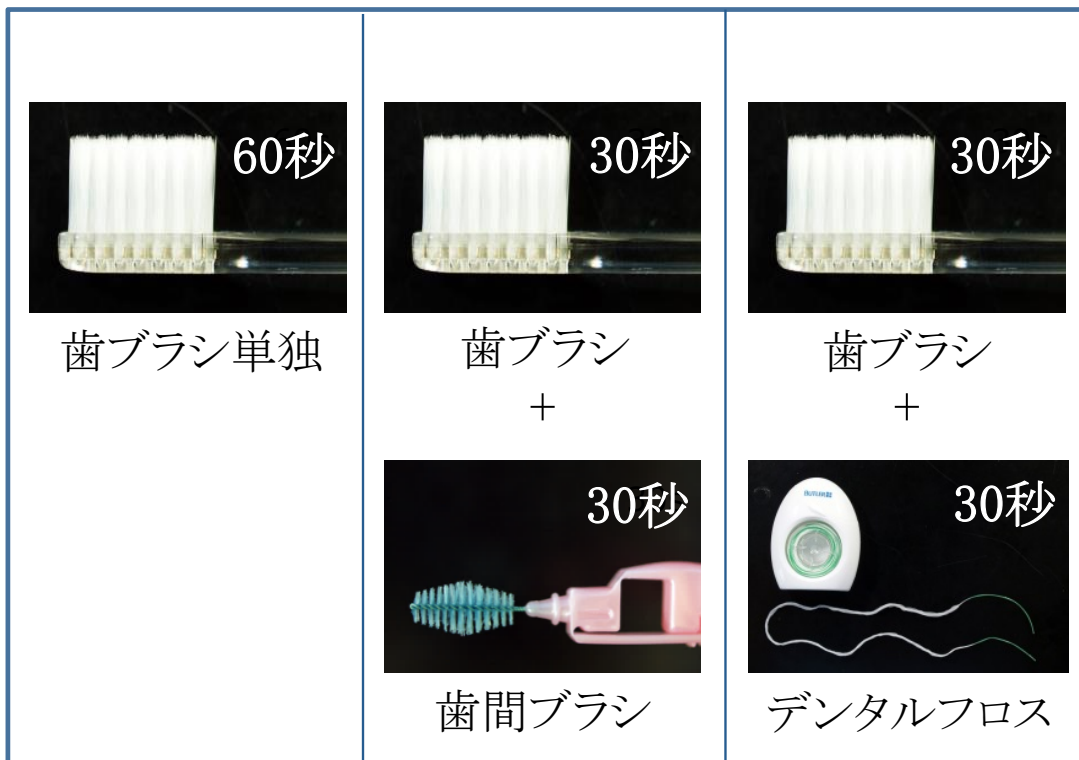


図 1-4: 清掃方法の組み合わせ

撮影条件設定:Standard 撮影倍率:1.0 撮影距離:24cm

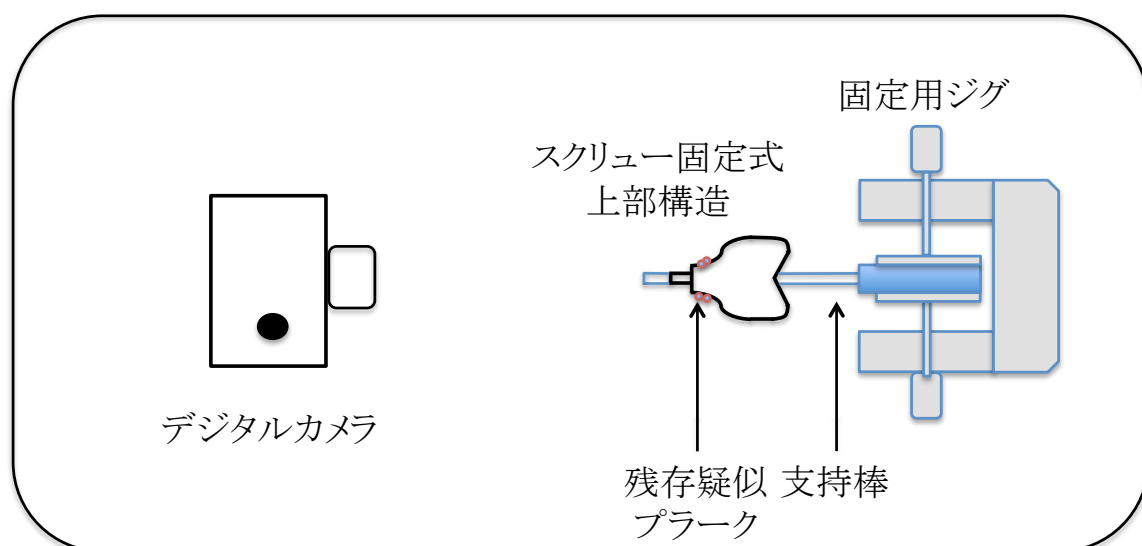
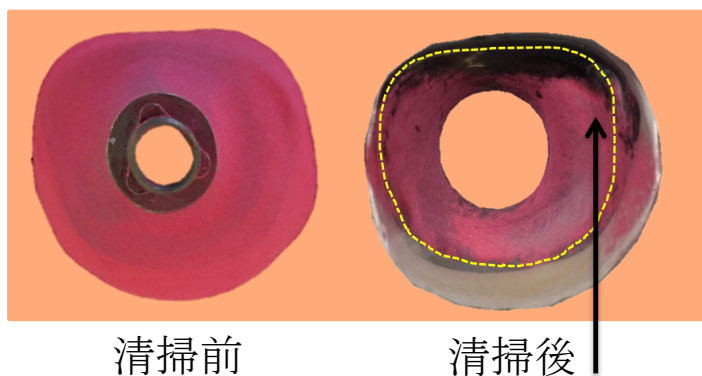


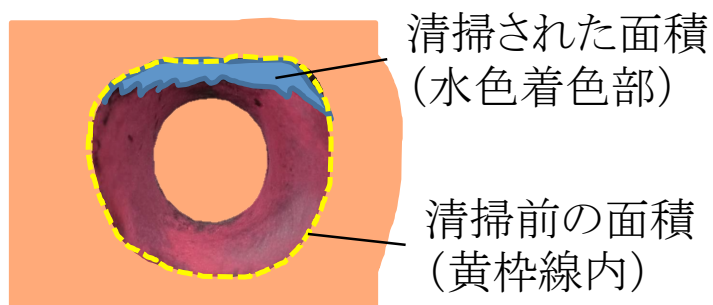
図 1-5: インプラント上部構造底面の規格撮影法

清掃後のインプラント上部構造底面をデジタルカメラで規格撮影

(アイ・スペシャル C-II, 松風社, 京都)



解析対象範囲
(黄枠線内): 粘膜縁下部



清掃された面積
(水色着色部)

清掃前の面積
(黄枠線内)

$$\text{プラーク除去率 (\%)} = \frac{\text{清掃された面積} \times 100}{\text{清掃前の面積}}$$

図 1-6: 画像解析及び計測方法

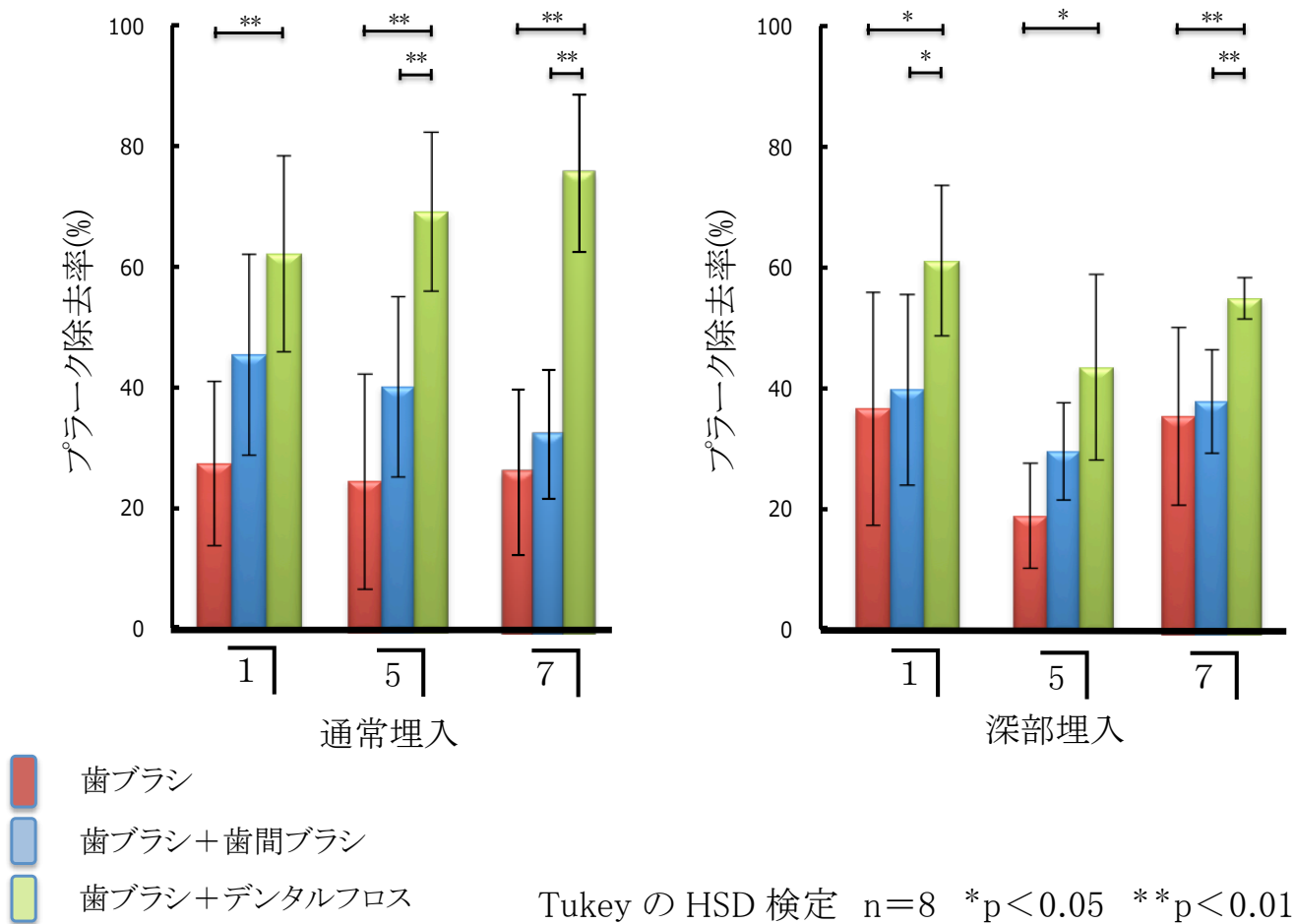
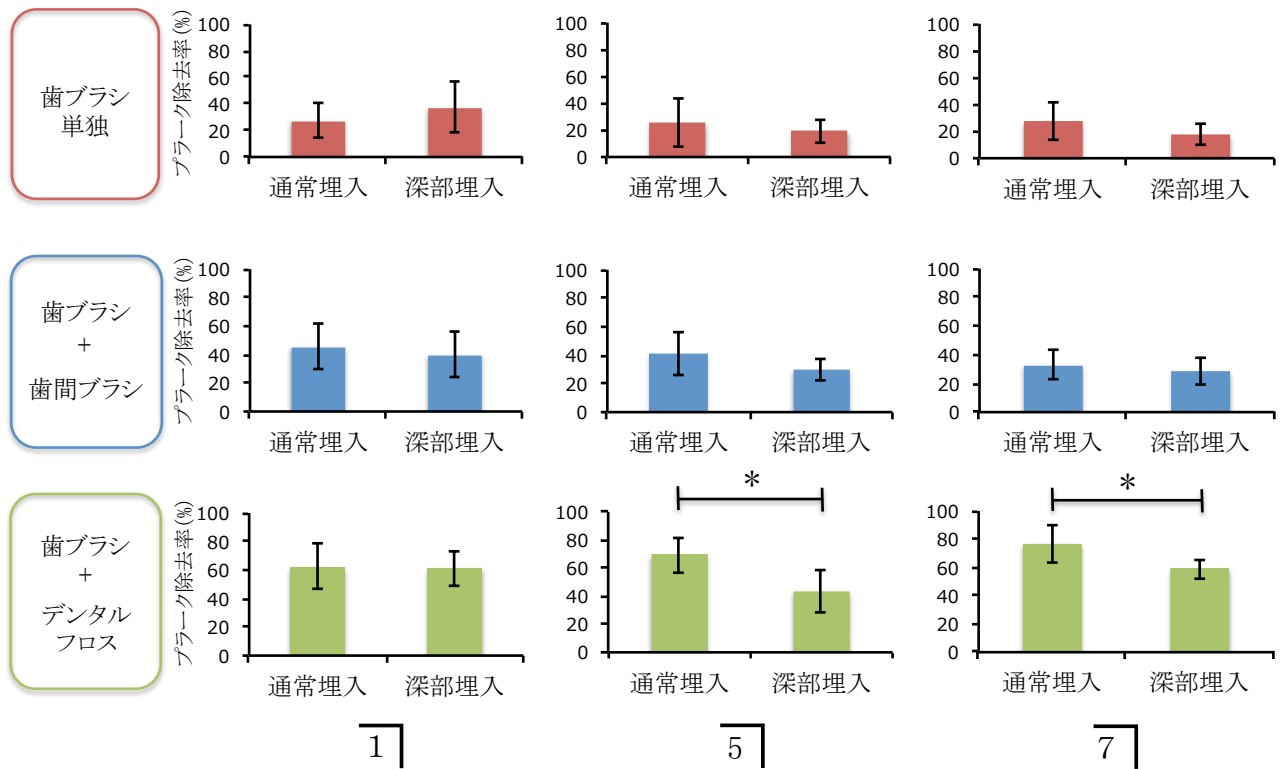


図 1-7: 清掃方法の違いによる疑似プラーク除去率の比較 (平均値と標準偏差)



Student の T 検定 n=8 *p<0.05

図 1-8: 埋入深度の違いによる疑似プラーク除去率の比較(平均値と標準偏差)

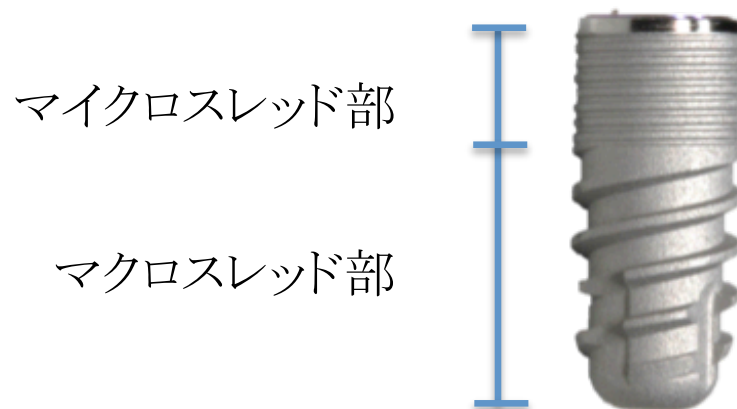


図 2-1: 実験 2 で使用したインプラント (直径 3.3mm, 長さ 8mm)

(Aadva インプラント, ジーシー社, 東京)



インプラント体を固定したマウスピースの側面観
直径 5mm, 高径 1.5 mmの即時重合レジン製レジンキャップで, インプラント体の上端と下端を挟みこみ, マウスピースに咬合平面に対してインプラント体が垂直になるように固定.

インプラント体の全面にバイオフィルムが付着可能.

図 2-2: 実験用マウスピース





| | | | | |
|-----------------|---|---|--|---|
| コントロール 清掃なし |  |  |  |  |
| 清掃方法 | 生理食塩水 含浸ガーゼ | 超音波 スケーラー | エアー アブレーション | 金属製 回転式ブラシ |
| 使用器具 | 滅菌ケーパー No.7165 (カワモト) | スプラソン P-MAX (サテレック) インプラント プロテクト (アクテオン) | エアフロー マスター ピエゾン (EMS) | iBrush (ネオバイオテック) |
| 設定 | 20×50 mm ² | Pモード:5 | 水量:100% エアー圧:75% | 1500rpm |
| バイオフィルム 除去機序 | 清拭効果 | 振動 キャビテーション効果 | 吹付け時の衝撃力 | 回転による刷掃効果 |
| 参考文献 | Carcuac, et al. ²⁸ <i>J Dent Res.</i> 2015 | Serino and Turri. ³¹ <i>Clin Oral implants Res.</i> 2011 | Maximo, et al. ³² <i>Clin Oral implants Res.</i> 2015 | Gular, et al. ³³ <i>Clin Implant Dent Relate Res.</i> 2017 |

図 2-3:インプラント体表面のバイオフィルムの除去方法

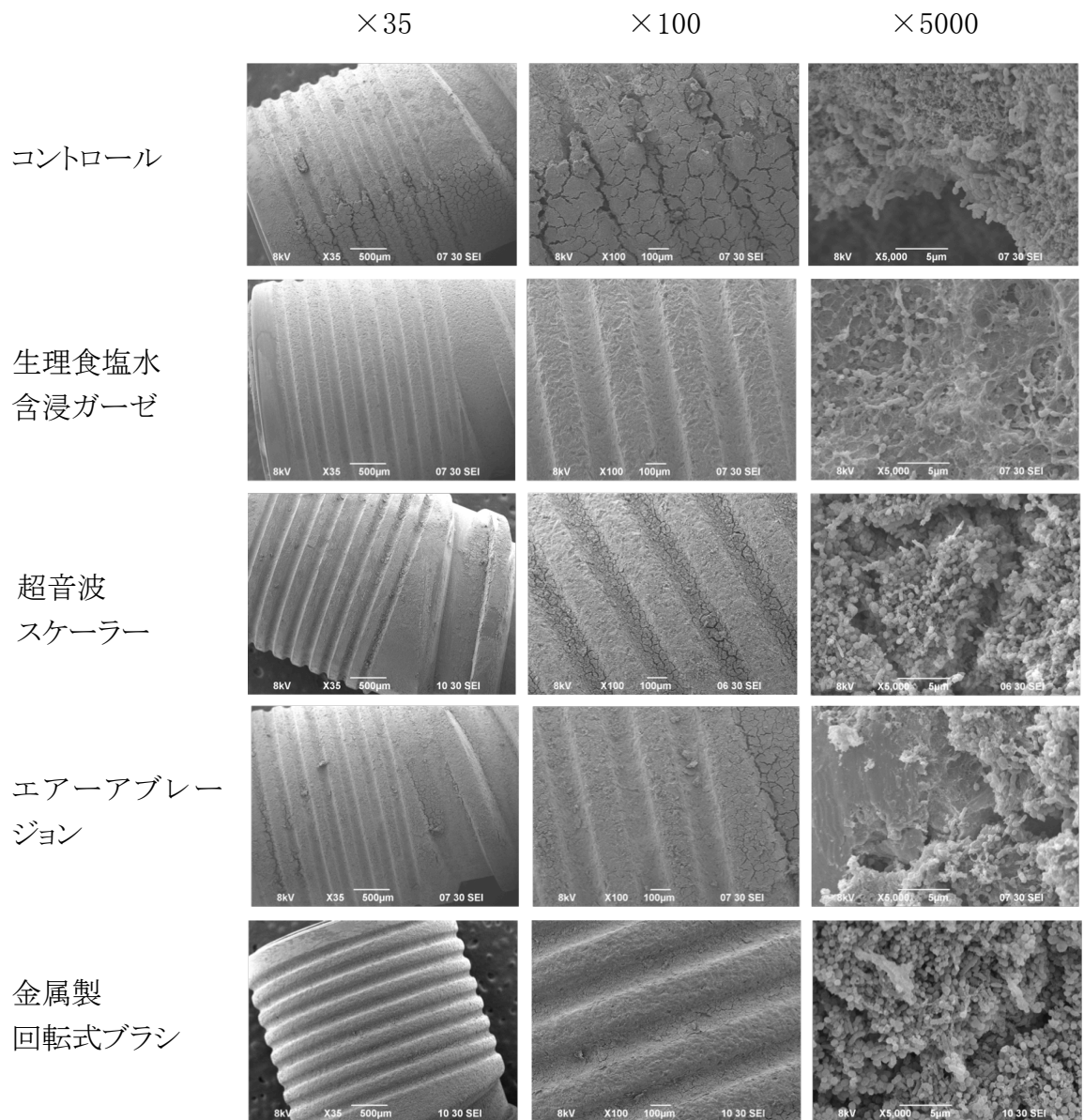


図 2-4: SEM 像(マイクロスレッド部)

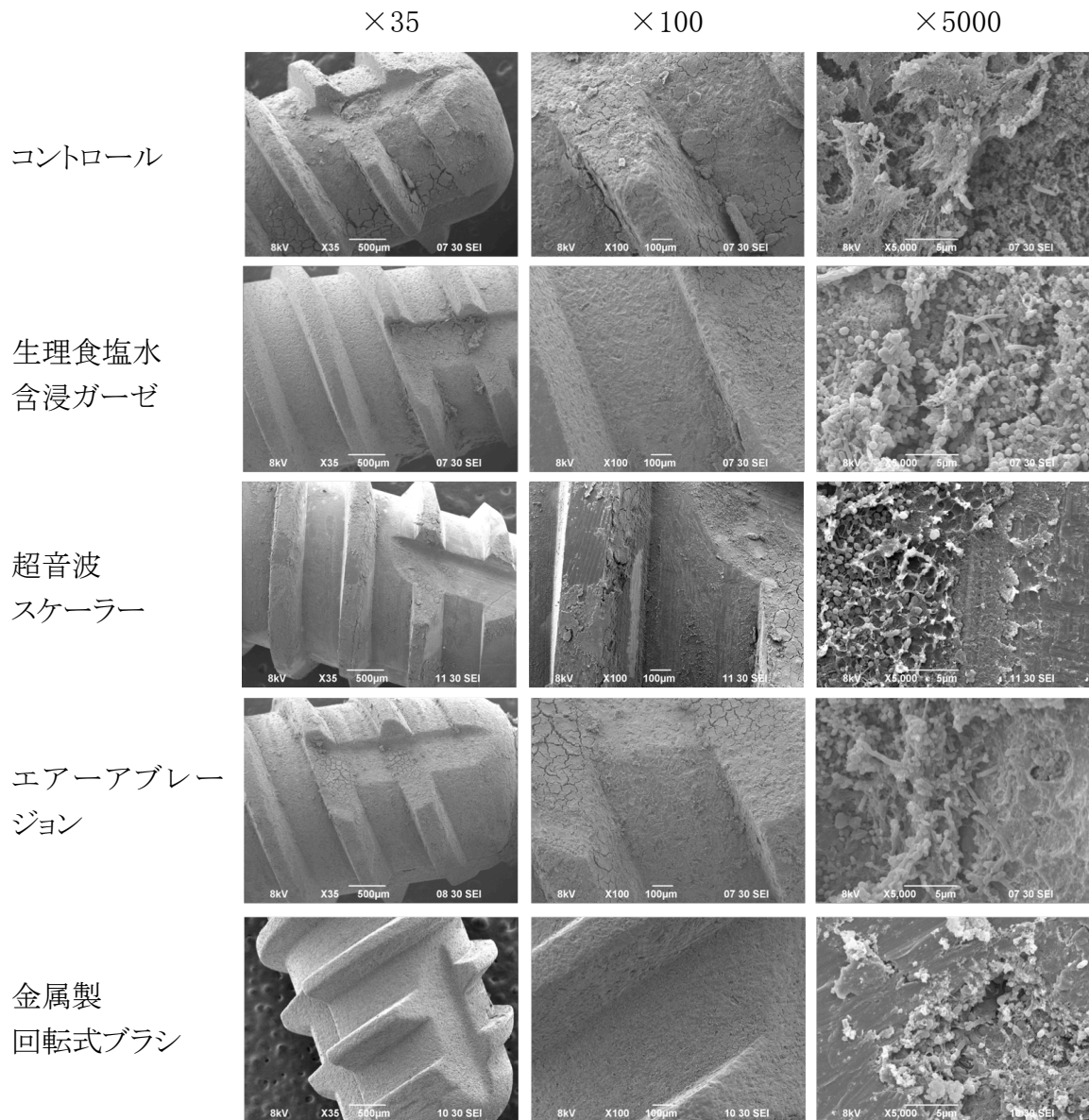


図 2-5: SEM 像(マクロスレッド部)

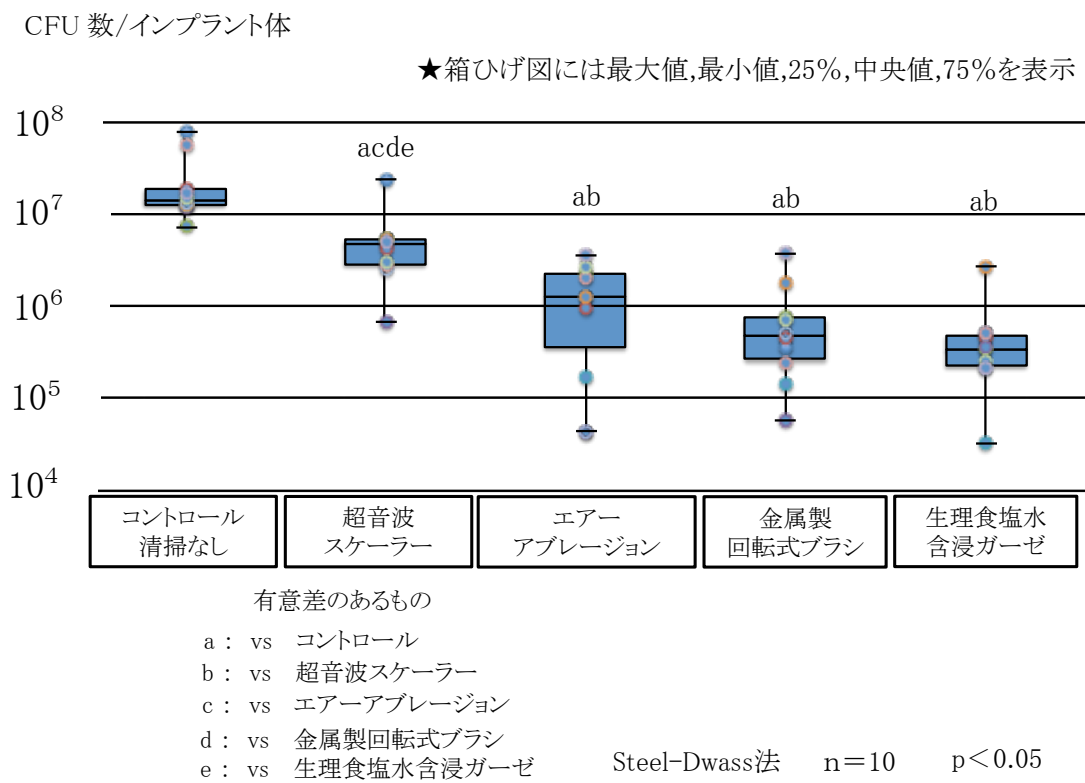
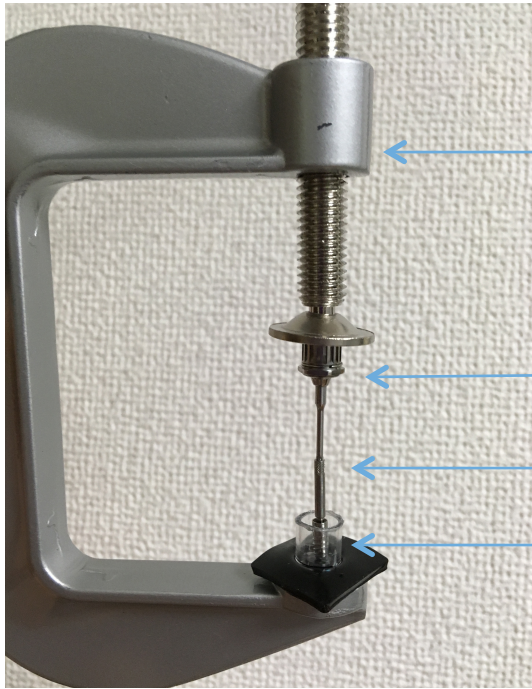
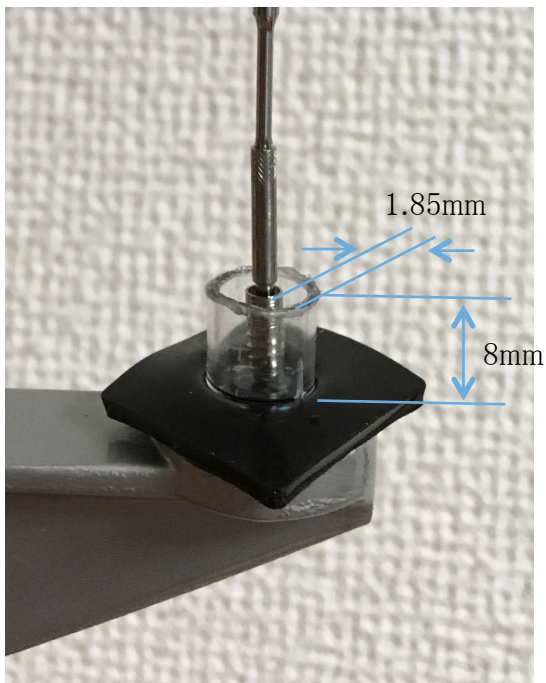


図 2-6: 清掃方法の違いによるインプラント体表面清掃後の残存生菌数の比較



C クランプ

スキルドライバー (ジーシー社)
インプレッションコーピングスクリュー
(ジーシー社)
プラスチック製円筒
(内径 7mm, 外径 9mm, 高さ 8mm)



器具到達性制限モデルの拡大写真

プラスチック製円筒を用い、
囲繞性骨欠損を実験モデルに反映
(欠損幅 1.85mm, 欠損深さ 8mm)

図 2-7: 器具到達性の制限方法

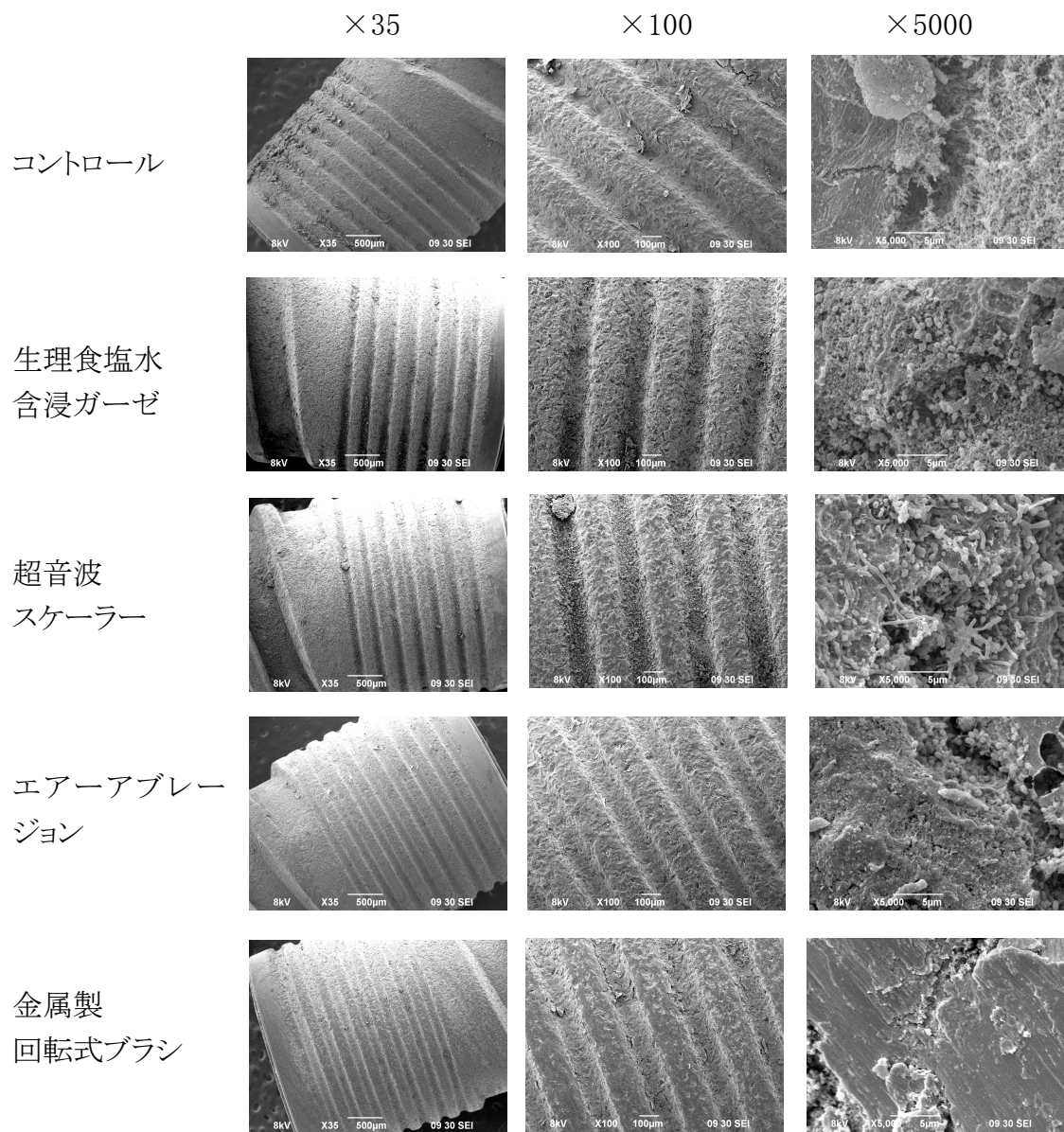


図 2-8 SEM 像(マイクロスレッド部)

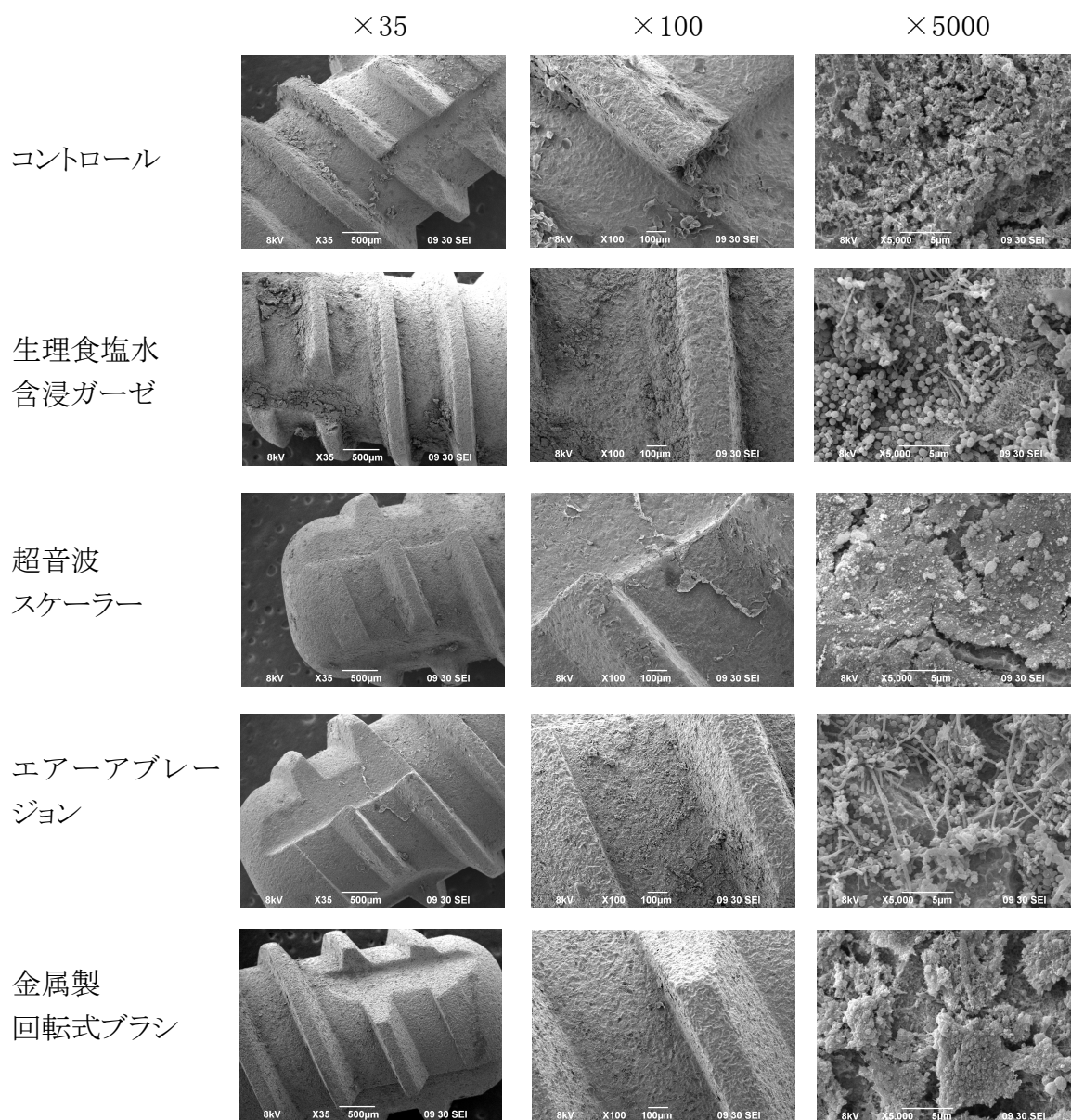
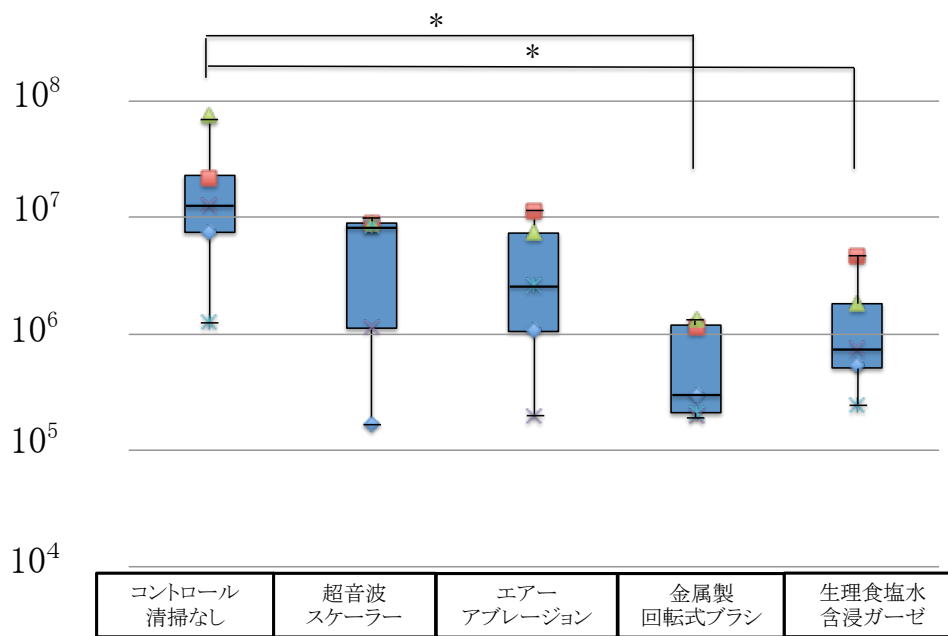


図 2-9 SEM 像(マクロスレッド部)

CFU 数/インプラント体

★箱ひげ図には最大値,最小値,25%,中央値,75%を表示



Steel-Dwass法 n=5 *p<0.05

図 2-10

器具到達性の制限を与えた際の, 清掃方法の違いによる

インプラント体表面清掃後の残存生菌数の比較

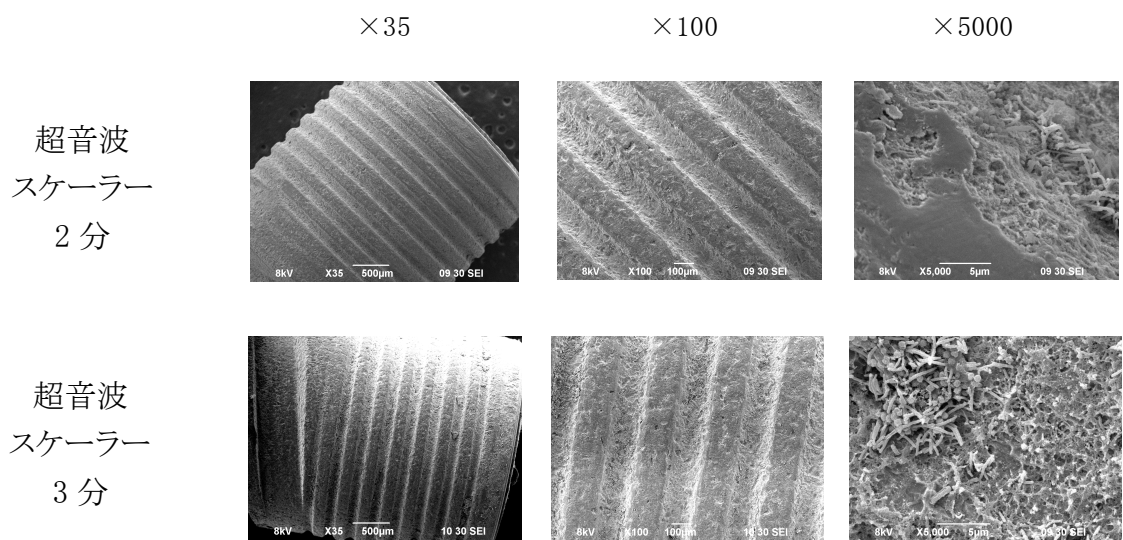


図 2-11:SEM 像(マイクロスレッド部)

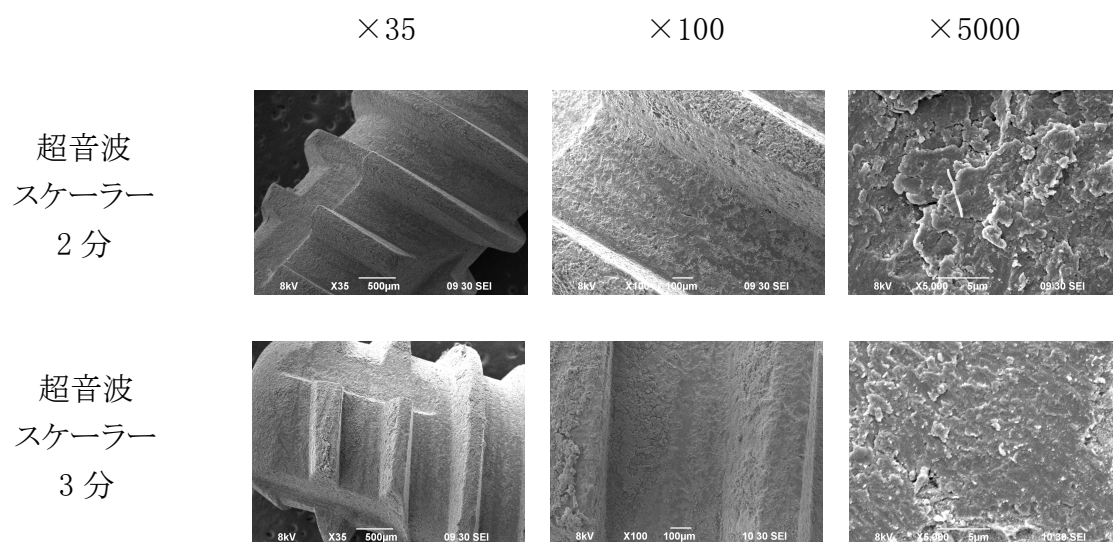


図 2-12:SEM 像(マクロスレッド部)

