

氏名(本籍)	江口 徹(兵庫県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	乙第14号
学位授与年月日	平成19年6月13日
学位授与の要件	学位規則第3条第3項該当
学位論文題名	成人性歯周炎の細菌学的診断とその治療における抗菌剤の選択
論文審査委員	(主査) 福山正文 (副査) 本田政幸 松田基夫

論文内容の要旨

成人性歯周炎の原因は口腔内グラム陰性桿菌、特に歯周ポケット内から検出される特異な嫌気性細菌が主体である。その歯周炎の初期治療では、歯周病菌が高密度に生息する歯周ポケット内の清掃を目的としてスケーリングやルートプレーニング等の機械的方法で歯牙と歯肉の微細な隙間を清掃することが重要である。しかし、その様な初期治療でも改善が見られない部位には、除菌を目的として抗生物質の歯周ポケット内局所投与を行うことが1990年以降、治療体系に組み込まれてきた。しかし、これらの治療で機械的清掃により原因菌がどの程度除去されたかを測定する手法が少なく、使用できる歯周病菌検査キットでも感度や菌種の特異性、操作性は充分ではない。また、歯周病の治療においてテトラサイクリン系の薬剤が多く使用されているが、日本では2%塩酸ミノサイクリン軟膏以外に承認されている局所投与抗生物質はなく、検出された菌種に対応した薬剤選択が行えない。更に、臨床現場では抗生物質治療へ移行する判断基準や、抗生物質治療後改善が見られない場合の薬剤選択基準が確立されず、不必要な歯肉切除等の外科処置や拔牙など、オーバートリートメントが生じていることから、基本的な検査・治療体系を確立することが重要な課題となっている。そこで、筆者は診断システムであるDNA/RNAプローブを用いたPadoTestが成人性歯周炎における歯周ポケット内の原因菌検索に有用であることを加味して、今回、(1)治療後の歯周ポケット内細菌の検索へのPadoTestを用いて応用の可能性を検討するとともに、(2)急性歯周膿瘍における歯周ポケット内に2%塩酸ミノサイクリン軟膏の投与を行って、処置前後における菌の消長を検討した。さらに、(3)ニューキノロン系薬剤とバイオフィームに対し効果の期待できるマクロライド系の抗生物質を用いて、歯周病の起原菌に対する抗菌力を測定し、臨床への応用の可能性を検討した。その概要は以下のとおりである。

1. PadoTestを用いて、急性歯周膿瘍患者の治療前後における細菌叢の変化について検討した結果、試験群(46例)およびコントロール群(45例)の総菌数において、試験群では0日目 1.4×10^7 /サンプル(ペーパーポイント#45番で採取したサンプル)、7日目 4.4×10^6 /サンプル、コントロール群で

は0日目 1.4×10^7 /サンプル、7日目 1.2×10^7 /サンプルであった。0日目と7日目の両群の比較では、試験群で処置後に菌数の低下が認められたが、コントロール群では菌量の差は認められなかった。また、0日目では群間比較において、菌量の差は認められなかった。しかし、7日目では試験群はコントロール群に比べて菌数が低下していることが明らかとなった。

- 急性歯周膿瘍患者の治療前後における臨床指標では、試験群では歯周ポケットの深さに改善が認められ、コントロール群に比べ優位に改善されていることが明らかとなった。また、処置前後における *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* および *Tannerella forsythia* (*Bacteroides forsythus*) の指標菌の合計4菌種の検出率変動では、*T.forsythia*, *P.gingivalis* および *T.denticola* の3菌種の試験群で0日目に比べて7日目で有意 ($p < 0.01$) に検出率が減少した。試験群とコントロール群の比較では、7日目の検出率において *T.forsythia*, *P.gingivalis* および *T.denticola* の3菌種は、試験群で有意に減少した。しかし、*A.actinomycetemcomitans* では検出例数が少なく、両群間において差異は認めなかった。
- 口腔内細菌に対するニューキノロン系薬剤およびマクロライド系薬剤の抗菌力について、口腔内から分離頻度の高い18菌種およびコントロール3菌種の計21菌種の基準菌株を用いて、各種薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) 分布について検討した。今回供試した4種のニューキノロン系薬剤の中で Ofloxacin と Levofloxacin は *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *P.melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga gingivalis*, *C.sputigene* などの歯周病関連菌株に対し $< 0.013 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ に分布し、低い MIC 値を示した。また菌種別では、*P.intermedia* は Norfloxacin と Levofloxacin に対して $0.013 \mu\text{g/ml}$ 、*Eikenella corrodens* は Ofloxacin、Levofloxacin および Ciprofloxacin に対して $0.025 \sim 0.05 \mu\text{g/ml}$ に分布し、低い MIC 値を示した。一方、若年性歯周炎の原因菌である *Actinobacillus actinomycetemcomitans* は、いずれのニューキノロン系薬剤に対しても $< 0.013 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$ に分布し、特に Levofloxacin と Ciprofloxacin は < 0.013 と低い MIC 値を示した。一方、ニューキノロン系薬剤は、口腔内から分離される齶蝕起因菌の *Lactobacillus* 属株に $1.56 \sim > 25 \mu\text{g/ml}$ 、*Streptococcus* 属株に $0.39 \sim > 25 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示したのに対し、対照薬剤である Minocycline はこれら両菌属株に $0.39 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示し、MIC 値は劣っていた。*P.gingivalis* 株では供試した4種のマクロライド系薬剤に対して $0.05 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示し、対照薬剤である Minocycline の $0.1 \mu\text{g/ml}$ に比べ、高い MIC 値であった。*F.nucleatum* 株では、マクロライド系薬剤に $0.39 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$ 、および Azithromycin に $0.39 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示した。*A.actinomycetemcomitans* 株では、マクロライド系薬剤に $0.1 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示し、Minocycline の $0.2 \mu\text{g/ml}$ に比べやや高い MIC 値を示した。しかし、その他の歯周病関連菌に対しては、マクロライド系薬剤は Minocycline と同等の MIC 値を示した。一方、*Lactobacillus* 属株では $0.1 \sim 0.39 \mu\text{g/ml}$ 、*Streptococcus* 属株では $0.05 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示し、マクロライド系薬剤は低い MIC 値を示した。
- 成人性歯周炎患者の歯周ポケットから分離した *P.gingivalis* 20株と *A.actinomycetemcomitans* 7株の

合計27株の臨床分離株に対するMICの分布を測定した。その結果、*P.gingivalis* に対して各種薬剤をMIC₉₀で比較するとマクロライド系薬剤は Clarithromycin 0.1 μ g/ml、Roxithromycin 0.39 μ g/ml および Azithromycin 1.56 μ g/ml を示し、ニューキノロン系薬剤の Levofloxacin や Ciprofloxacin の 6.25 μ g/ml と比較して2管から6管低いMIC値を示した。また、Minocycline では基準株0.1 μ g/ml に比べ臨床分離株は0.78 μ g/ml とMIC値が高かったが、Clarithromycin と Roxithromycin では臨床分離株MIC値は基準株と類似していた。*A.actinomycetemcomitans* の臨床分離株に対する各種薬剤のMIC₉₀を比較したところ、ニューキノロン系薬剤では Levofloxacin 0.025 μ g/ml、Ciprofloxacin 0.013 μ g/ml を示し、低いMIC値を示した。しかし、マクロライド系薬剤では本菌に対し3.13～25 μ g/ml とMIC₉₀値が高く、ニューキノロン系薬剤とは明らかに差異が認められた。

以上のことから、PadTestを用いた急性歯周膿瘍における局所投与抗生物質治療前後の歯周ポケット内総菌数について検討したところ、歯周ポケット内洗浄単独処置に比べ、局所投与抗生物質治療後に総菌数レベルが明らかに高い効果で低下することが明らかとなった。また、菌種別の検討では、*P.gingivalis*, *T.forsythia* および *T.denticola* の3菌種が歯周炎と同様に急性歯周膿瘍においても重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、試験群では歯周ポケット洗浄単独に比べて3菌種の検出率および検出部位数を有意に減少させていた。一方、抗生物質の歯周病原菌に対するMIC値では、ニューキノロン系薬剤、特に Levofloxacin および Ciprofloxacin が *A.actinomycetemcomitans* や *E.corrodens* に対してMIC値が低く、他の薬剤に比べ、優れていたことから若年性歯周炎患者の治療に有効であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

成人性歯周炎の原因菌として口腔内グラム陰性桿菌が挙げられるが、その中でも特に歯周ポケット内から検出される特異な嫌気性細菌 (*Actinobacillus actinomycetemcomitans* や *Porphyromonas ginivalis* など) が主体である。その歯周炎の初期治療では、歯周病菌が高密度に生息する歯周ポケット内の清掃を目的としてスクレーピングやルートプレーニング等の機械的方法で歯牙と歯肉の微細な隙間を清掃することが重要視されている。しかし、その様な初期治療でも改善が見られない部位には、除菌を目的として抗生物質の歯周ポケット内局所投与を行うことが1990年以降、治療体系に組み込まれてきた。ところが、これらの治療での機械的清掃により原因菌がどの程度除去されたかを測定する手法が少なく、使用できる歯周病菌検査キットでも感度や菌種の特異性、操作性は充分ではない。また、歯周病の治療においてはテトラサイクリン系の薬剤が多用されているが、日本では2%塩酸ミノサイクリン軟膏以外に承認されている局所投与抗生物質はなく、検出された菌種に対応した薬剤選択が行えない。更に、臨床現場では抗生物質治療へ移行する判断基準や、抗生物質治療後改善が見られない場合の薬剤選択基準が確立されておらず、不必要な歯肉切除等の外科処置や抜歯など、オーバートリートメントが生じていることから、基本的な検査・治療体系を確立することが重要な課題となっている。そこで筆者は、診断システムであるDNA/RNAプローブを用いたPadTestが成人性歯周炎における歯周ポ

ケット内の原因菌検索に有用であることを加味して、今回、(1) 治療後の歯周ポケット内細菌の検索への PadoTest を用いた応用の可能性を検討した。(2) 急性歯周膿瘍の歯周ポケット内に2%塩酸ミノサイクリン軟膏の投与を行って、処置前後における菌の消長を検討した。さらに、(3) ニューキノロン系薬剤とバイオフィルムに対し効果の期待できるマクロライド系の抗生物質を用いて、歯周病の起因菌に対する抗菌力を測定し、臨床への応用の可能性の検討を行った。その概要は以下のとおりである。

1. PadoTestを用いた急性歯周膿瘍患者の治療前後における細菌叢の変化では、試験群(46例)およびコントロール群(45例)の総菌数において、試験群では0日目 1.4×10^7 /試料(ペーパーポイント#45番で採取したサンプル)、7日目 4.4×10^6 /試料、対照群では0日目 1.4×10^7 /試料、7日目 1.2×10^7 /試料であった。0日目と7日目の両群の比較では、試験群で処置後に菌数の低下が認められたが、対照群では菌量の差は認めなかった。また、0日目では群間比較において、菌量の差は認めなかった。しかし、7日目では試験群は対照群に比べて菌数が低下していることが明らかとなった。
2. 急性歯周膿瘍患者の治療前後における臨床指標において、試験群では歯周ポケットの深さに改善が認められ、対照群に比べ優位に改善されていることが明らかとなった。また、処置前後における *A.actinomycetemcomitans*, *P.ginivalis*, *Treponema denticola* および *Tannerella forsythia* (*Bacteroides forsythus*) の合計4菌種の指標菌の検出率変動では、*T.forsythia*, *P.gingivalis* および *T.denticola* の3菌種は試験群では0日目に比べて7日目で有意 ($p < 0.01$) に検出率が減少した。試験群とコントロール群の比較では、7日目の検出率において *T.forsythia*, *P.gingivalis* および *T.denticola* の3菌種は、試験群で有意に減少した。しかし、*A.actinomycetemcomitans* では検出例数が少なく、両群間において差異は認められなかった。
3. 口腔内細菌に対するニューキノロン系薬剤およびマクロライド系薬剤の抗菌力について、口腔内から分離頻度の高い18菌種およびコントロール3菌種の計21菌種の基準菌株を用いて、各種薬剤の最小発育阻止濃度(MIC)分布について検討した。今回供試した4種のニューキノロン系薬剤の中で Ofloxacin と Levofloxacin は *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *P.melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga gingivalis*, *C.sputigene* などの歯周病関連菌株に対し $<0.013 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ に分布し、低いMIC値を示した。また菌種別では、*P.intermedia* は Norfloxacin と Levofloxacin に対して $0.013 \mu\text{g/ml}$ 、*Eikenella corrodens* は Ofloxacin、Levofloxacin および Ciprofloxacin に対して $0.025 \sim 0.05 \mu\text{g/ml}$ に分布し、低いMIC値を示した。一方、若年性歯周炎の原因菌である *Actinobacillus actinomycetemcomitans* は、いずれのニューキノロン系薬剤に対しても $<0.013 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$ に分布し、特に Levofloxacin と Ciprofloxacin は <0.013 と低いMIC値を示した。一方、口腔内から分離される齲蝕起因菌の *Lactobacillus* 属株に $1.56 \sim >25 \mu\text{g/ml}$ 、*Streptococcus* 属株に $0.39 \sim >25 \mu\text{g/ml}$ のMIC値を示したが、対照薬剤である Minocycline はこれら両菌属株に $0.39 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ のMIC値を示し、MIC値が高く抗菌力は劣って

いた。*P.gingivalis* 株では供試した4種のマクロライド系薬剤に対して0.05～0.78 $\mu\text{g/ml}$ のMIC値を示し、対照薬剤であるMinocyclineの0.1 $\mu\text{g/ml}$ に比べ、高いMIC値であった。*F.nucleatum* 株では、マクロライド系薬剤に0.39～12.5 $\mu\text{g/ml}$ およびAzithromycinに0.39 $\mu\text{g/ml}$ のMIC値を示した。*A.actinomycetemcomitans* 株では、マクロライド系薬剤に0.1～6.25 $\mu\text{g/ml}$ のMIC値を示し、Minocyclineの0.2 $\mu\text{g/ml}$ に比べ、やや高いMIC値を示した。しかし、その他の歯周病関連菌に対して、マクロライド系薬剤とMinocyclineは同等のMIC値を示した。一方、*Lactobacillus* 属株では0.1～0.39 $\mu\text{g/ml}$ 、*Streptococcus* 属株では0.05～1.56 $\mu\text{g/ml}$ のMIC値を示し、マクロライド系薬剤は低いMIC値を示した。

4. 成人性歯周炎患者の歯周ポケットから分離した*P.gingivalis* 20株と*A.actinomycetemcomitans* 7株の合計27株の臨床分離株に対する各種薬剤に対するMICの分布をMIC₉₀と比較すると*P.gingivalis*ではマクロライド系薬剤のClarithromycinに0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、Roxithromycinに0.39 $\mu\text{g/ml}$ およびAzithromycinに1.56 $\mu\text{g/ml}$ を示し、ニューキノロン系薬剤のLevofloxacinやCiprofloxacinの各6.25 $\mu\text{g/ml}$ と比較して2管から6管低いMIC値を示した。また、Minocyclineでは基準株0.1 $\mu\text{g/ml}$ に比べ臨床分離株は0.78 $\mu\text{g/ml}$ とMIC値が高かったが、ClarithromycinとRoxithromycinでは臨床分離株のMIC値は基準株と類似していた。*A.actinomycetemcomitans*の臨床分離株に対する各種薬剤のMIC₉₀を比較すると、ニューキノロン系薬剤ではLevofloxacinに0.025 $\mu\text{g/ml}$ 、Ciprofloxacinに0.013 $\mu\text{g/ml}$ を示し、低いMIC値を示した。しかし、マクロライド系薬剤では3.13～25 $\mu\text{g/ml}$ とMIC₉₀値が高く、ニューキノロン系薬剤との間には明らかな差異が認められた。

以上の様に、PadoTestを用いた急性歯周膿瘍における局所投与抗生物質治療前後の歯周ポケット内総菌数について検討を行ったところ、歯周ポケット内洗浄単独処置に比べ、局所投与抗生物質治療後に総菌数が減少し明らかに抗菌効果が現れていることが明らかになった。また、急性歯周膿瘍患者治療前後における菌種別の検討では、*P.gingivalis*、*T.forsythia* および*T.denticola* の3菌種が歯周炎と同様に急性歯周膿瘍でも重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、試験群では歯周ポケット洗浄単独に比べて3菌種の検出率および検出部位数が有意に減少していた。一方、抗生物質の歯周病原菌に対するMIC値では、ニューキノロン系薬剤、特にLevofloxacinおよびCiprofloxacinが*A.actinomycetemcomitans* や*E.corrodens* に対してMIC値が低く、他の薬剤に比べ、優れており若年性歯周炎患者の治療に有効であることが明らかとなった。

以上のように、本研究は成人歯周炎の細菌学的診断とその治療法における抗菌剤の選択に関する詳細で臨床微生物学上、有用でありかつ細菌学上、公衆衛生学上および臨床治療学上、その進展に寄与するところ大であることから、博士（学術）の学位を授与することに値するものと審査員一同認めた。