ミノサイクリンの局所的応用による歯周病治療法

LS-007 至適濃度の臨床的検討

栗 本 桂 二 磯 島 修 直 良 有 香
 穴 田 高 小 林 芳 友 栗 原 英 見
 木 下 正 彦 野 村 慶 雄 村 山 洋 二

岡山大学歯学部歯科保存学第2講座

(主任：村山洋二教授)

(昭和62年3月23日受付)

Periodontal Therapy by Local Delivery of Minocycline

Clinical Study on Optimum Concentration of in LS-007

Keiji KURIMOTO, Osamu ISOSHIMA, Yuka NAORA,
 Takashi ANADA, Yoshitomo KOBAYASHI, Hidemi KURIHARA,
 Masahiko KINOSHITA, Yoshio NOMURA and Yoji MURAYAMA

Department of Periodontology and Endodontology

Okayama University Dental School

(Chief: Prof. Yoji MURAYAMA)

The purpose of this study was to research of optimum concentration of minocycline hydrochloride (MINO) in LS-007 for local delivery of MINO in periodontal therapy in succession. LS-007 is the paste contained MINO and designed the sustaining released drug.

The experiment was carried out with a double-blind split-mouth study on 72 teeth with periodontal pockets which could be probed to 4 mm or more. Each tooth was randomly assigned to the application of one of test drugs containing 1%, 2%, 3% MINO and placebo into the periodontal pocket. The effects of test drugs were evaluated by following criteria: decreasing of microorganisms, changes of microbial flora (represented by reductions of the proportion of motile microorganisms), and improvements of clinical parameters.

Significant reductions in the density of microorganisms and the proportion of motile microorganisms were observed in the 2% MINO paste groups compared with the placebo group. These reductions reached the maximum in 2 days after all test drugs administration and continued until 7 and 14 days.

Although, the reduction in the proportion of motile microorganisms was significant in the 1% MINO paste group at 2 and 14 days, 2% MINO paste at 14 days and 3% MINO at 7 days after administration, respectively.

Clinical parameters (representing probing depth, gingival inflammation, plaque, calculus, pus discharge and tooth mobility) did not changed significantly compared with the placebo group.

Further studies are needed to establish the system for local delivery of minocycline, and must be worth

due consideration follows :

- 1) 2% MINO paste must be used as a sustainedly released paste (LS-007).
- 2) Reductions of the density of microorganisms and the proportion of motile microorganisms in peri-

odontal pocket should be used for the examinations of microbiological effects.

- 3) Clinical effects must be assessed at least after the elapse of 14 days in LS-007 administration.

Key words : Local delivery of antibiotics for periodontal disease, Minocycline, LS-007

要旨 : 塩酸ミノサイクリン (MINO) を歯周病病巣の局所に滞留させ、歯周病原性微生物をコントロールする製剤として開発された LS-007 による治療法を確立するための研究を行った。本報は、MINO の至適濃度を臨床的に検討した成績である。

4 mm 以上のポケットを有する 72 歯の歯周炎被験歯に対し、split-mouth 法によって MINO を各々 1%, 2%, および 3% 含有する軟膏と MINO を含有しないプラセボを歯周ポケット内に注入し、微生物学的変動ならびに臨床症状の変化を二重盲検法で検討した。

MINO を含む軟膏群はプラセボ群に比べ、総微生物に占める運動性微生物の構成比率ならびに微生物密度を著明に減じた。その減少は、投与後 2 日目をピークとして、7 日目および 14 日目まで持続した。統計学的にプラセボ群と比較した有意な低下は、運動性微生物の構成比率に関しては、1%, 2% および 3% の軟膏群であった。微生物密度に関しては、投与後 2 日目の 2% 軟膏群であった。

索引用語 : 歯周病の抗生物質局所療法, ミノサイクリン, LS-007

緒 言

歯周病の抗生物質治療法を確立することを目的に、塩酸ミノサイクリン (MINO: 日本レダリー, 東京) を局所に応用することを検討してきた。

著者らは、歯周病関連細菌に対する有効な抗生物質を選択し、外用薬として用いるときのおおまかな至適応用濃度と応用方法として、抗生物質はテトラサイクリン系の MINO が、歯周病原性微生物に感受性が高く、そして歯周ポケット微生物に徐放的に作用を持続させ、機械的なブラークコントロール方法を併用すると有効性の増すことを示した^{1,2,3)}。

LS-007 はこれらの成績をもとに、サンスターと日本レダリーの共同開発による歯周病の局所療法軟膏製剤である。今回、両社より提供された製剤について MINO の至適濃度を二重盲検法に基づいて検討した。

材料と方法

1. 被験薬およびプラセボ

LS-007 は主薬に MINO を用いた図 1 に示す処方⁴⁾の製剤である。賦形剤にグリセリンを、増粘剤にヒドロキシエチルセルロースを、そして MINO の徐放性をたかめるために持続性コーティング剤オイドラギット RS と

リアセチンを添加した。被験薬は 3 種類とし、それぞれの力価が 1%, 2%, 3% の割合になるように MINO を配合した (1%, 2%, 3% 軟膏)。なお、プラセボは MINO を含まない偽薬剤であり、これらの被験薬間で外観および性状の区別がつかないようにするために、1%, 2% 軟膏およびプラセボには、リボフラビン (日本ロシュ, 東京), 食用黄色 5 号 (キリヤ化学, 大阪) および食用青色 1 号 (キリヤ化学, 大阪) を適量添加した。

2. 被験者および被験歯

岡山大学歯学部附属病院第二保存科に来院した 20 歳以上の歯周病患者のうち、歯周病以外の疾患を有さず本研究開始前 2 ヶ月以内に抗生物質を服用していない 20 名を被験者とし、1 被験者から 2 歯あるいは 4 歯を被験歯として選んだ。

被験歯は次の条件を満たす歯とした。

- 1) 左右対称歯の臨床症状が類似し、2) 両隣在歯が存在し、3) 4 mm 以上の歯周ポケットを有する。

LS-007 (持続性軟膏)		配合率
塩酸ミノサイクリン	1.0, 2.0, 3.0%	力価
オイドラギット R S/トリアセチン		14.0%
安定化剤		5.0%
ヒドロキシエチルセルロース/グリセリン		
		ad. 100.0%

図 1 被験薬

表 1 背景因子 I

	20代	30代	40代	50代	60代	Kruskal-Wallis 検定	男	女	χ^2 -検定
プラセボ群	0	5	0	5	1	NS	6	5	NS
1%軟膏群	1	2	3	5	2		7	6	
2%軟膏群	0	5	2	4	2		5	8	
3%軟膏群	1	3	2	6	0		4	8	

NS : Not significant

薬剤投与 ▼

図 2 被験薬およびプラセボの投与と微生物学的ならびに臨床症状の検査スケジュール

3. 投与方法

磯島ら²⁾の記載に従って、被験薬およびプラセボをルートキャナルシリンジ(ネオ製薬工業, 東京)に充填し、歯周ポケット内に1歯あたり約0.05 ml注入した。

4. 微生物検査

歯周ポケット内プラークの採取方法、構成微生物の検査方法は、磯島ら²⁾の記載に従った。ただし、磯島らの研究結果²⁾から、微生物叢の形状別変化は、運動性微生物(運動性桿菌+スピロヘータ)の構成比率の変化によって代表させるのが最も適当であると考えた。

5. 臨床症状の観察

臨床症状はポケット長、歯肉炎症、プラーク沈着、歯石沈着、排膿、および歯の動揺について観察した。各臨床症状は、磯島ら²⁾の記載に従って、それぞれの症状を指数で表わした。

6. 検査スケジュール

1被験者あたり、被験薬およびプラセボの4剤を無作為に割付け、split-mouth法に従って歯周ポケットに注入した。微生物検査は投与直前(0日)、投与後2日目、7日目、および14日目に行った。臨床症状の観察は、投与直前(0日)と投与後14日目に行なった(図2)。

なお試験期間中は、被験薬剤以外の薬剤の投与や、歯周ポケット内微生物を機械的に排除するような処置を一切行なわなかった。しかし、ブラッシングによるプラーク

コントロールは、特別な指導を与えることなく、これまで被験者がもっていた習慣通りに行なうように指示した。

コントローラーは岡山大学歯学部附属病院薬剤部部長衛藤幸平氏に依頼し、被験薬間で外観および性状が区別できないことの確認、被験薬およびプラセボの無作為割付、被験薬中のMINO濃度の確認を行なった。またkey codeの保管ならびに開封、開鍵後のデータの不変性ならびにデータ解析処理の公正性などに対する保証がなされた。

7. 解析手法

被験歯の年齢別、性別、微生物叢の形状別構成および歯周炎症症状の程度の分布等の背景因子に関する検定は、Kruskal-Wallis検定と χ^2 -検定を単独もしくは併用した。微生物叢および臨床症状の被験薬間の有意差検定は、Kruskal-Wallisの分散分析(Schefféの方法)による。危険率は両側危険率を採用し、危険率5%以下を有意水準とした。

8. 開 鍵

臨床検討終了後ケースカードを回収し、記載事項の確認を行った後、試験総括医師(村山洋二)およびコントローラーが除外および脱落の判定を行い、症例を固定し開鍵した。

結 果

1. 被験歯の背景因子

20名72歯に被験薬またはプラセボが注入され、このうち、19歯は注入前総歯数不足による被験薬の投与中断のため、4歯は急性結膜炎により来院不能のため解析より除外し、プラセボ群11歯、1%軟膏群13歯、2%軟膏群13歯、3%軟膏群12歯の計18名49歯を解析対象とした。被験薬およびプラセボ投与群の被験歯の年齢分布、性別のばらつきに、統計学的な有意差はなかった(表1)。薬剤投与前における臨床所見、微生物密度、およびその総微生物に占める運動性微生物の構成比率は、各被

表 2 背景因子 II

項 目	Kruskal-Wallis 検定*
1) サンプル部位のポケット深さ (mm)	NS
2) 各微生物密度 ($\times 10^{-7}/2\text{ml}$)	NS
3) 総微生物に占める各微生物の構成比率 (%)	NS
4) 歯肉炎指数	NS
5) プラーク指数	NS
6) 歯石指数	NS
7) 排膿指数	NS
8) 歯の動揺度	NS
9) ポケットの深さ	NS
10) 一歯あたりの注入量	NS

*: プラセボ群, 1%軟膏群, 2%軟膏群, 3%軟膏群間の構成の偏りを検定

NS: Not significant

図 3 歯周ポケット内総微生物に占める運動性微生物の構成比率の変化

Kruskal-Wallis 検定 (Scheffé の方法) を用いて被験薬群間の有意差を調べた。図にはプラセボ群との有意差を付記した。*: $P < 0.05$

験薬およびプラセボ投与の群間に有意の偏りはなかった (表 2)。

2. 臨床成績

1) 歯周ポケット内微生物叢の変化

被験薬による微生物叢の変化は, 総微生物に占める運動性微生物の構成比率の変化によって表わした。

図 4 歯周ポケット内微生物密度の変動
Kruskal-Wallis 検定 (Scheffé の方法) を用いて被験薬群間の有意差を調べた。図にはプラセボ群との有意差を付記した。*: $P < 0.05$

被験薬群の総微生物に占める運動性微生物の構成比率はプラセボ群と比較して, 1%軟膏群の投与 2 日目と 14 日目, 2%軟膏群の 14 日目および 3%軟膏群の 7 日目に有意の減少を認めた。また, 2%軟膏群では 2 日目と 7 日目に, 3%軟膏群では 14 日目に減少の傾向があった (表 3, 図 3)。

2) 歯周ポケット内微生物密度の変化

被験薬およびプラセボ投与前後の歯周ポケットの微生物密度を表 4 と図 4 に示した。プラセボ群に対し, 2%軟膏群は 2 日目に微生物密度の有意な減少を示し, 14 日

表 3 歯周ポケット内運動性微生物の構成比率の変動

		運動性微生物の構成比率 (比率の平均値±標準偏差) (%)			
		0 日	2 日*	7 日*	14 日**
プラセボ群	(n=11)	36.9±14.7	29.8±18.9	37.2±22.3	37.0±17.5
1%軟膏群	(n=13)	36.8±15.9	9.8±7.1	17.0±13.9	17.4±17.9
2%軟膏群	(n=13)	34.1±14.9	10.8±8.0	12.1±10.9	15.1±10.1
3%軟膏群	(n=12)	43.9±6.6	10.8±6.5	11.3±11.6	17.5±15.1

Kruskal-Wallis の分散分析にしたい 4 被験薬群間の有意なバラツキを調べ、Scheffé の方法で 2 被験薬群間の有意差を調べた。* : $P < 0.05$ ** : $P < 0.01$

表 4 歯周ポケット内微生物密度の変動

		微生物密度 (平均値±標準偏差) ($\times 10^{-7}$)			
		0 日	2 日**	7 日	14 日
プラセボ群	(n=11)	5.79±3.01	3.80±3.26	4.48±5.32	5.36±5.26
1%軟膏群	(n=13)	9.06±7.89	1.40±1.09	2.73±2.10	3.59±3.71
2%軟膏群	(n=13)	8.47±6.57	0.87±1.22	2.11±3.50	1.95±2.47
3%軟膏群	(n=12)	9.25±6.09	0.91±1.02	1.20±1.32	2.76±4.68

Kruskal-Wallis の分散分析にしたい 4 被験薬群間の有意なバラツキを調べ、Scheffé の方法で 2 被験薬群間の有意差を調べた。* : $P < 0.05$ ** : $P < 0.01$

目には減少の傾向を認めた。また、3%軟膏群は 2 日目に減少の傾向を認めたが、1%軟膏群ではプラセボ群との間に有意の差はなかった。

3) 臨床症状の変化

被験薬投与による臨床症状の変化を表 5 に示した。被験薬群のポケット長、歯肉炎症、ブラーク沈着、歯石沈着、排膿、および歯の動揺の各臨床症状は、1%、2% および 3% 軟膏群の歯石沈着などを除き投与前に比べ、投与 14 日目に改善傾向を示したが、その程度はプラセボ群に比べ有意ではなかった。

4) 安全性

被験薬およびプラセボ投与による注入部位の刺激、アレルギー性反応およびその他の副作用は全く認められなかった。

考 察

抗生物質を歯周病病巣の局所に滞留させ、歯周病原性微生物をコントロールする“抗生物質の歯周病治療法”を確立するため、1) 抗生物質製剤の選択、2) 効果的な抗生物質の濃度範囲の選定、および 3) 局所投与方法の検索を行ってきた^{1,2,3)}。本論文は、これらの研究から得た情報に基づいて製造化された LS-007 を、臨床的に評価するための第一弾である。

被験薬投与後、総微生物に占める運動性微生物の構成比率はいずれの群でも投与後 2 日目で約 1/3 に、14 日目で約 1/2 に減少した。特に、投与後 2 日目には 1% 軟膏群が、7 日目には 3% 軟膏群が、14 日目においては 1% および 2% 軟膏群がプラセボ群に比べ有意の減少であった。

微生物密度は、投与前と比較して投与後 2 日目で約 1/9 に、14 日目で約 1/3 に減少した。プラセボ群に比べ有意の減少を認めたのは投与後 2 日目の 2% 軟膏群のみであり、2% 軟膏群の 14 日目、3% 軟膏群の 2 日目には減少傾向が認められた。これらの結果を総合すると、ほぼプラセボ<1%<2%≒3%と考えられ、安全性を考慮すると、2% が至適濃度と判断される。一方、有意差は認められなかったものの、いくつかの臨床症状においてもプラセボ群に比べ、各被験薬群で改善傾向が認められた。LS-007 のこれらの結果は、MINO, 200 mg を 7 日間連続経口投与することによって、投与終了直後に病巣の微生物密度が投与前の約 1/9 に、運動性微生物の構成比率が約 1/2 に減少したとする Ciancio らの研究成績⁴⁾に匹敵する効果を得たことになる。しかし、テトラサイクリン, 1,000 mg を 2 週間連続して経口投与した後、引き続きテトラサイクリン, 250 mg を 48 週間連続経口投与した Lindhe ら⁵⁾の研究では、運動性微生物の構成比率は投与開始後 2 週間目で約 1/12 に減少したと報告して

表 5 臨床症状の変化

項 目		臨床症状指数 (指数の平均値 ±標準偏差)	
		0 日	14 日
プラセボ群 (n=11)	ポケット長	4.55±1.04	4.55±1.32
	歯肉炎症	1.63±0.59	1.52±0.65
	プラーク沈着	1.05±0.69	0.37±0.79
	歯石沈着	2.05±0.88	2.05±0.91
	排膿	0.23±0.34	0.14±0.32
	歯の動揺	0.73±0.90	0.82±0.87
1%軟膏群 (n=13)	ポケット長	4.32±1.01	4.01±0.91
	歯肉炎症	1.68±0.52	1.67±0.38
	プラーク沈着	0.73±0.83	0.62±0.79
	歯石沈着	1.81±0.93	1.96±0.95
	排膿	0.31±0.38	0.15±0.26
	歯の動揺	0.85±0.80	0.77±0.83
2%軟膏群 (n=13)	ポケット長	4.83±1.03	4.45±1.13
	歯肉炎症	1.71±0.35	1.46±0.58
	プラーク沈着	1.08±0.61	0.77±0.67
	歯石沈着	2.23±0.75	2.31±0.69
	排膿	0.35±0.42	0.13±0.20
	歯の動揺	1.31±1.11	1.31±1.11
3%軟膏群 (n=12)	ポケット長	4.48±1.08	4.13±1.05
	歯肉炎症	1.70±0.36	1.66±0.34
	プラーク沈着	1.00±0.90	1.08±0.70
	歯石沈着	1.96±0.92	2.04±0.75
	排膿	0.27±0.34	0.10±0.23
	歯の動揺	0.92±0.79	0.92±0.79

有意差検定 (Kruskal-Wallis) は各臨床症状指数の
0 日と 14 日目の指数の差の変化量で調べたが、
有意差はなかった。

おり、本研究の成績に比べ、優れた結果を示している。これらの研究は、いずれも抗生物質を内服投与しており、従って投与量も多く、本剤が極めて微量の抗生物質で治療が可能なのは、抗生物質のもつ副作用の面から評価するならば、極めて大きな改善になっていると考えられる。抗生物質をポケットに局所投与した研究はほかにくつか報告されている⁶⁻¹³⁾。セルロースアセテート性の膜に満たしたテトラサイクリンが徐々に浸透するようにしたもの (Hollow fiber) を歯周ポケットに挿入する方法によって局所投与を試みた Lindhe ら⁶⁾の報告では、投与後 14 日目の運動性微生物の構成比率は、投与前の約 1/2 であった。また、Goodson ら⁷⁾のエチレンビニールアセテートにテトラサイクリンを含ませて作った線維 (Monolithic fiber) を用いる局所投与法では、投与後 1

月後で運動性微生物の構成比率は約 1/2 であった。このように、微生物叢の変化では、本研究の効果とほぼ同等の成績が報告されている。

一般的に、薬剤の臨床効果を調べる研究では、臨床症状の改善を指標とすることが多い。抗生物質においても、多くの感染症では、微生物叢に変化を与えた結果として、臨床症状の改善が 3~14 日目と比較的早い時期に評価されている。歯周病の抗生物質療法として、Listgarten ら⁸⁾はテトラサイクリン、1,000 mg を実験開始 1~2 週目と 7~8 週目に経口投与して、臨床症状の変化を調べた結果を報告している。それによると臨床症状の改善は 8 週間後に著明に表われた。また、前述の Lindhe ら⁶⁾のテトラサイクリンの局所投与法では、5 週間後に著明な改善を得ている。本研究においては被験薬の投与は単回であり、臨床症状の観察は 14 日目のみであった。臨床症状の改善を評価するためには、更に、実験期間を延長したプロトコルを組まなければならないと判断される。

抗生物質の歯周病治療への応用の実際では、抗生物質の投与だけで対処するという事は有り得ない。なんらかの機械的なプラーク除去療法との組み合わせが必要である。本研究では、MINO の含有濃度を検索するのが目的であり、微生物叢への種々の因子の影響を排除するために、あえてスケーリングによる機械的プラークコントロールをプロトコルに導入しなかった。しかし、本研究で被験薬の微生物叢に対する効果が立証されたので、スケーリングとの併用についての検討が今後の重要課題と考える。どの時期にスケーリングを施し、どの段階で LS-007 を投与するかを考察する必要がある。

結 論

塩酸ミノサイクリン (MINO) の局所投与による“抗生物質歯周病治療法”を確立するため、LS-007 中の MINO 至適濃度を、微生物学的な変動ならびに臨床症状の変化を二重盲検法で検討し、以下の結論を得た。

1) 総微生物に占める運動性微生物の構成比率は、被験薬投与群のいずれの濃度のものであっても、投与 2 日目に著明に減少し、この減少は投与 14 日目まで続した。また、1% および 2% 軟膏群において、プラセボ群に比べ有意に減少した。

2) 微生物密度は、いずれの被験薬群でも、14 日目まで減少傾向を認めた。また、2% 軟膏群で、プラセボ群と比較して有意な減少であった。

3) 臨床所見は、いずれの臨床症状にも被験薬群とプラセボ群間に有意な変化はなかった。

以上の結果より、2% 軟膏は、歯周病の抗生物質局所治療において、有効であることが示唆され、今後の検討は2% 軟膏を用いることとした。

本研究の一部は、1986年(昭和61年度)文部省科学研究費、奨励研究(A)-61771528の援助のもとに行なわれた。

文 献

- 1) 中島光一, 水道裕久, 江口 徹, 中村正一, 杉原邦夫, 村山洋二: 歯周病の抗生物質治療 1. 抗生物質の選択, 日歯周誌, 29: 464-472, 1987.
- 2) 磯島 修, 直良有香, 栗本桂二, 穴田 高, 小林芳友, 栗原英見, 木下正彦, 野村慶雄, 村山洋二, 中島光一, 長谷川健二, 中村正一: 歯周病の抗生物質治療 2. ミノサイクリン局所投与の試み, 日歯周誌, 29: 473-484, 1987.
- 3) 直良有香, 磯島 修, 栗本桂二, 穴田 高, 小林芳友, 栗原英見, 木下正彦, 野村慶雄, 村山洋二, 中島光一, 桂木康弘: 歯周病の抗生物質治療 3. ミノサイクリン局所投与の試み, 日歯周誌, 29: 485-492, 1987.
- 4) Ciancio, S.G., Slots, J., Reynolds, H.S., Zambon, J.J. and McKenna, J.D.: The effect of short-term administration of minocycline HCl on gingival inflammation and subgingival microflora. J. Periodontol., 53: 557-559, 1982.
- 5) Lindhe, J., Liljenberg, B. and Adielsson, B.: Effect of long-term tetracycline therapy on human periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 10: 590-601, 1983.
- 6) Lindhe, J., Heul, L., Goodson, J.M. and Socransky, S.S.: Local tetracycline delivery using hollow fiber devices in periodontal therapy. J. Clin. Periodontol., 6: 141-149, 1979.
- 7) Goodson, J.M., Offenbacher, S., Farr, D.H. and Hogan, P.E.: Periodontal disease treatment by local drug delivery. J. Periodontol., 56: 265-272, 1985.
- 8) Listgarten, M.A., Lindhe, J. and Hellden, L.: Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 5: 246-271, 1978.
- 9) Goodson, J.M., Holdorow, D., Dunn, R.L., Hogan, P. and Dunham, S.: Monolithic tetracycline-containing fibers for controlled delivery to periodontal pockets. J. Periodontol., 54: 575-579, 1983.
- 10) Addy, M. and Langeroudi, M.: Comparison of the subgingival microflora of acrylic strips containing 40% chlorhexidine, metronidazole or tetracycline. J. Clin. Periodontol. 11: 379-386, 1984.
- 11) Goodson, J.M., Hogan, P.E. and Dunham, S.L.: Clinical responses following periodontal treatment by local drug delivery. J. Periodontol., 56: 81-87, 1985.
- 12) 徳本圭伊子, 土田和範, 河村 誠, 中村正一, 長谷川健二, 岩本義史: テトラサイクリン配合水性軟膏の歯周ポケット内投与による菌叢の変動, 日歯周誌, 27: 923-930, 1985.
- 13) 野口俊英, 福田光男, 北村 慈, 小林 誠, 梅田 誠, 石川 烈, 鈴木嘉樹: 歯周ポケット内への薬剤局所投与が歯肉縁下細菌および臨床症状に及ぼす影響, 日歯周誌, 28: 737-743, 1986.