アクア酸化水のプラーク形成抑制効果

西 田 哲 也 江 田 昌 弘 嶋 田 浩 一
山 田 潔 伊 藤 公 一 村 井 正 大

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座

(主任：村井正大教授)

(平成5年9月20日受付)

Effects of Acid Electrolysis Water on Plaque Formation

Tetsuya NISHIDA, Masahiro EDA, Koichi SHIMADA,
Kiyoshi YAMADA, Koichi ITO and Seidai MURAI

Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry

1-8-13, Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101, Japan

(Chief : Prof. Seidai MURAI)

The purpose of this study was to investigate the application of acid electrolysis water (OX-water) to the prevention of plaque formation in comparison with 0.2% chlorhexidine solution and physiologic saline solution on radicular dentin after root planing procedures. The subjects were 9 dentists and 4 dental students. After removing the cementum of periodontally-healthy third molars with a sterile diamond bur, test specimens (5×5×1 mm) were cut from the radicular dentin. They were exposed in the intraoral area on retainer for 7 days and each

solution was applied 2 times (30 sec ; 8 : 00 a.m. & 9 : 00 p.m.) a day. After 7 days, they were removed from the retainer and fixed, and the plaque formation on each specimen was then observed by SEM.

The results of this study indicate that the inhibiting effect on plaque formation of OX-water was more pronounced than that of physiologic saline solution but was not the same as that of 0.2% chlorhexidine. This suggests that OX-water has the potential to be used for chemical plaque control.

Key words : Chemical plaque control, Acid electrolysis water, Plaque formation, SEM observation

要旨：本実験の目的は、アクア酸化水 (OX 水) のプラーク形成抑制効果について検討することである。日本大学歯学部学生および大学院生、歯周病科医局員計 13 名 (男子 8 名、女子 5 名) を被検者とした。ヒト第三大臼歯より大きさ 5×5×1 mm に切り出した象牙質試験片を埋入した口腔内保持装置を作製した。実験期間は 7 日間とし、装置を口腔内に装着し OX 水で、朝夕 (8 : 00, 17 : 00) 1 日 2 回 (1 回 30 秒) 洗浄を行った。対照として、0.2% クロルヘキシジン水溶液と生理食塩液を用いた。一試験片上に形成されたプラークの様相を、走査型電子顕微鏡で観察を行った。その結果、OX 水で象牙質片を洗浄することで、0.2% クロルヘキシジン水溶液と比較して若干劣るものの、生理食塩液で洗浄した場合よりも明らかにプラーク形成量が抑制され、かつ初期プラーク形成における構成細菌叢に対して影響があった。このことから、OX 水が化学的プラークコントロールの一方法として臨床応用できることが示唆された。

索引用語：化学的プラークコントロール、アクア酸化水、プラーク形成、走査型電子顕微鏡観察

緒 言

歯科の二大疾患である齲蝕と歯周疾患は、その発症や進行にプラークが深く関与していることが明らかにされており、その治療および予防を行ううえで、プラークコントロールに重点が置かれている¹⁻³⁾。プラークコントロールは、機械的プラークコントロールと化学的プラークコントロールとに大別される⁴⁾が、通常、患者自身によるブラッシングといった機械的プラークコントロールが主体となっている。しかしながら、プラークを完全に除去することは不可能であり、また、個人差もあり、個人によっては良好なプラークコントロールレベルを機械的方法のみで得ることは難しいと報告されている^{5,6)}。そこで、機械的プラークコントロールの補助的な、さらには、より良好なプラークコントロールレベルの維持を目的とした化学的プラークコントロールが注目されている⁷⁻⁹⁾。化学的プラークコントロールには、抗生剤や殺菌剤、酵素剤、植物エキス、およびこれらの複合物などがあげられている⁴⁾。そのうちプラーク形成抑制効果が確認されているのは 0.2% クロルヘキシジン水溶液¹⁰⁻¹³⁾とフェノール製剤のうちの一部¹⁴⁾にすぎないが、わが国ではクロルヘキシジンの体内への使用は禁忌である¹⁵⁾ため、それに変わるような薬剤の研究が盛んに行われている¹⁶⁻¹⁹⁾。

そこで著者らは、口腔外で様々な細菌、ウイルスに対して殺菌効果のあるアクア酸化水 (OX 水)²⁰⁾を用いそのプラーク形成抑制効果およびプラーク構成細菌叢に対する影響を、生理食塩液と 0.2% クロルヘキシジン水溶液を対照として走査型電子顕微鏡を用いて検索した。

材料および方法

1. 材 料

1) 被 験 者

日本大学歯学部学生および大学院生、歯周病科医局員のうち、全身的に健康で口腔内に歯周疾患、齲蝕、歯列不正、咬合異常などを認めない男子 8 名、女子 5 名計 13 名 (年齢 24.5 ± 1.8 歳) を被験者とした。

2) 試 験 液

Oxilyzer[®] (OXM-01, 三浦電子社製, 秋田) で製造した OX 水は、pH 2.6 前後で、酸化還元電位 1100 mV 以上をもって試験液とした。また、その対照として、生理食塩液 (日本薬局方生理食塩液, 大塚製薬社製, 東京) および 0.2% クロルヘキシジンジグルコネート水溶液 (Chlorhexidine digluconate, Sigma Chemical Co., USA) を用いた。

2. 方 法

1) 試験片の作製

ヒト健全第三大臼歯歯根部象牙質からダイヤモンドバーで $5 \times 5 \times 1$ mm の大きさに切り出し、セメント質を除去したものを試験片とした。その後、その表面を #240 のサンドペーパーで 20 回研磨して粗さを調整し実験に供した²¹⁾。

2) 口腔内保持装置

上顎歯列弓の石こう模型を作製し、左・右臼歯部頬側歯肉相当部に即時重合レジン (ユニファースト, ジーシー社製, 東京) で口腔内保持装置 (ステントと略す) を作製した。左・右のステント表面第一大臼歯相当部に、片側近遠心的に 2 コの試験片を埋め込んだ。

図 1 #240・サンドペーパーで処理後の象牙質表面 1 および断面 2 —: 10 μ m ($\times 2,000$)

図2 生理食塩液で洗浄7日後の象牙質表面1, 3および断面2, 4 —: 10 μ m ($\times 2,000$)

3) 洗浄方法と期間

実験開始直前にステントを、蒸留水中で15分間超音波洗浄を行い、被験者の上顎左・右臼歯部頬側側歯肉上に装着した。右側ステント遠心の試験片はOX水で、近心の試験片は生理食塩液で洗浄をそれぞれ1日2回朝夕(8:00, 17:00)30秒間ずつ行い、左側ステント近心の試験片はOX水、遠心の試験片は0.2%クロルヘキシジン水溶液でそれぞれ1日2回朝夕(8:00, 17:00)30秒間ずつ洗浄を行った。なお、試験液は各液ともビーカーに30mlずつ取り、その中で30秒間洗浄を行った。

実験期間は7日間とし、その期間中は、試験液による洗浄およびブラッシング時以外のステントの取り外しを禁じた。なお、食事や喫煙などの規制は特に行わなかった。

4) 走査型電子顕微鏡(以下SEMと略す)用試料の作製と観察方法

口腔内から取り出した試験片を軽く蒸留水で洗浄後、1%グルタルアルデヒド液中に2時間浸漬し固定を行った。固定後、試験片をほぼ中央で切断し、一方を表面観察用とし、他方を断面観察用とした。切断後、アルコール列で脱水し、臨界点乾燥(HCP-2,

日立工機社製, 東京)を行い、試料表面で金で、イオンスパッタコーティング(JFC-1100, 日本電子データム社製, 東京)を施し、SEM(JSM-T100, 日本電子データム社製, 東京)を用いて試験片の観察を2000倍で行った。

表面観察は、試験片のほぼ中央部とその部位より上下・左右それぞれ1mm離れた部分のおおの5ヵ所で行い、また、断面観察は試験片のほぼ中央とそこより左右1mmと2mm離れた部分の5ヵ所で行った。

3. 結 果

1) 生理食塩液洗浄試験片上のプラークのSEM観察(図2-1~4)

生理食塩液洗浄試験片では、象牙質表面上に球菌や桿菌および糸状菌の混在した細菌叢が認められ、また、象牙質表面および象牙細管口が認められないほどのプラークの形成が重層して観察され、成熟したプラーク像が観察された。

2) 0.2%クロルヘキシジン水溶液洗浄試験片上のプラークのSEM観察(図3-1~4)

0.2%クロルヘキシジン水溶液洗浄試験片では、象牙質表面上に球菌を主体とする細菌叢が認められたが桿菌はほとんど認められず、また糸状菌は観察されな

図 3 0.2% クロルヘキシジン水溶液で洗浄 7 日後の象牙質表面 1, 3 および断面 2, 4 —: 10 μm ($\times 2,000$)

かった。一方、象牙質表面および象牙細管口はすべての試験片で観察され、図 1-1 にみられるような、実験開始前において処理した #240 のサンドペーパー処理の痕像を認める試験片もあった。また、成熟したプラーク像は認められなかった。

3) OX 水洗浄試験片上のプラークの SEM 観察 (図 3-1, 2, 3, 4)

OX 水洗浄試験片では、球菌と若干の桿菌の混在した細菌叢が認められた。また、象牙質面および象牙細管口は随所に観察された。一方成熟したプラーク像は、ほとんど認められなかった。

以上、各試験片間に著明な個人差は認められなかった。

4. 考 察

OX 水の殺菌作用は OX 水中の活性塩素および低い pH による作用とされており²¹⁾、口腔外で様々な細菌、真菌、ウイルスなどに対して殺菌効果があるといわれている²⁰⁾。

そこで、本実験はその効果が口腔内でのプラーク形成抑制効果を発現するかどうかを、検索することを目的として企画した。その結果、対照としての生理食塩液洗浄試験片および 0.2% クロルヘキシジン水溶液洗

浄試験片と比較したところ、OX 水洗浄試験片では、プラーク構成細菌叢に桿菌が少なくまた、象牙質表面や象牙細管口が多数観察された。また、成熟したプラーク像はほとんど認められず 0.2% クロルヘキシジン水溶液洗浄より若干劣るものの、生理食塩液洗浄と比較して明らかなプラークの形成抑制効果がみられた。このことは OX 水が、口腔外と同様、口腔常在菌に対しても殺菌、静菌作用を発現しプラーク形成を抑制したと考えている。

0.2% クロルヘキシジン水溶液との差異については、歯面への停滞性の差が反映していると考えられる。クロルヘキシジンは歯面への吸着性によりよりその効果の持続性を示す²³⁾が、今回用いた OX 水は、その薬効成分から瞬間的な殺菌作用はあるものの、歯面上に停滞するとは考えがたい。したがって歯質に対する停滞性の差が、0.2% クロルヘキシジン水溶液洗浄試験片に比べ、OX 水洗浄試験片上のプラーク形成量の差となったものと考えられる。

以上のことから、OX 水洗浄によるその殺菌能力が、象牙質表面上のプラーク形成量の抑制に効果を発したのは明らかであり、またプラーク構成細菌に対しても影響を及ぼし、その成熟度を遅延させる効果が

図 4 OX 水で洗浄 7 日後の象牙質表面 1, 3 および断面 2, 4 —: 10 μ m ($\times 2,000$)

あったことから、化学的プラークコントロールの一方法として使用できることが示唆された。

今後、OX 水の回数や頻度などを含む使用法、硬組織や軟組織に対する安全性について検討し臨床応用する所存である。

結 論

実験的に象牙質試験片を口腔内に装着し、生理食塩液、0.2% クロルヘキシジン水溶液を対照として OX 水のプラーク形成抑制効果について、SEM 観察を行い検討したところ、以下のような結果を得た。

OX 水による洗浄は、生理食塩液による洗浄と比較して顕著なプラーク形成の質的および量的な抑制効果を示したが、0.2% クロルヘキシジン水溶液洗浄と比較すると、OX 水洗浄試験片上の構成細菌中に若干の桿菌の増加と成熟したプラーク像が観察された。

以上のことから、OX 水にプラーク形成抑制効果のあることが認められ、化学的プラークコントロールの一方法として使用できることが示唆された。

謝 辞

本実験を行う当たり、快くアクア酸化水を提供して下さいました特殊分析研究所石井 恵氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Nyman, S., Lindhe, J. and Rosling, B.: Periodontal surgery in plaque infected dentitions. J. Clin. Periodontol., 4: 240-249, 1977.
- 2) Rosling, B., Nyman, S., Lindhe, J. and Jern, B.: The healing potential of the periodontal tissues following different techniques of periodontal surgery in plaque-free dentitions. J. Clin. Periodontol., 3: 233-250, 1976.
- 3) Lindhe, J., Westfelt, E. and Nyman, S.: Long-term effect of surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 11: 448-458, 1984.
- 4) 小野瀬英雄: 化学物質によるプラークコントロール (Chemical plaque control) 歯界展望, 50: 51-57, 245-250, 1977.
- 5) Massler, M., Rosenberg, H.M., Carter, W. and Schour, I.: Gingivitis in young adult males: Lack of effectiveness of a permissive program of toothbrushing. J. Periodontol., 28: 111-124, 1957.

- 6) Lindhe, J. and Koch, G. : The effect of supervised oral hygiene on the gingivae of children. Lack of prolonged effect of supervision. J. Periodontol. Res., 2 : 215-220, 1967.
- 7) Loesche, W.J. : Chemotherapy of dental plaque infections. Oral Science Reviews, 9 : 65-107, 1976.
- 8) Hull, P.S. : Chemical inhibition of plaque. J. Clin. Periodontol., 7 : 431-442, 1980.
- 9) Ainamo, J. : Control of plaque by chemical agents. J. Clin. Periodontol., 4 : 23-35, 1977.
- 10) Davies, R.M., Jensen, S.B., Schiøtt, C.R. and Løe, H. : The effect of topical application of chlorhexidine on the bacterial colonization of the teeth and gingiva. J. Periodont. Res., 5 : 96-101, 1970.
- 11) Lawrence, C.A. : Antimicrobial activity, *in vitro*, of chlorhexidine. J. Am. Pharm. Assoc., 49 : 731-734, 1960.
- 12) Rølla, G., Løe, H. and Schiøtt, C.R. : Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. Arch. Oral Biol., 16 : 1109-1116, 1971.
- 13) Neiders, M.E. and Weiss, L. : The effects of chlorhexidine treatment on the electrokinetic characteristics of enamel and cell adhesion to human enamel *in vitro*. Arch. Oral Biol., 17 : 949-960, 1972.
- 14) Gordon, J.M., Lamster, I.B. and Seiger, M.C. : Efficacy of listerine antiseptic in inhibiting the development of plaque and gingivitis. J. Clin. Periodontol., 12 : 697-704, 1985.
- 15) 日本歯科医師会 : ヒビテングルコネートに代わる口腔粘膜の消毒剤. 日歯広報, 第 726 号 (9 月 25 日号), 1985.
- 16) 田中宏司 : 各種洗口液のプラークの付着抑制効果に関する研究—走査型電子顕微鏡による観察—. 日歯周誌, 30 : 383-398, 1988.
- 17) Tinanoff, N., Hock, J., Camosci, D. and Helldén, L. : Effect of stannous fluoride mouthrinse on dental plaque. J. Clin. Periodontol., 7 : 232-241, 1980.
- 18) 吉沼直人, 音琴淳一, 藤川謙次, 佐野裕士, 伊藤公一, 村井正大 : Viadent® および Chlorhexidine のプラーク抑制効果. 日歯周誌, 28 : 235-243, 1986.
- 19) 伊藤公一, 荒井法行, 菅野直之, 戸村真一, 金子和夫, 村井正大 : フッ化物塗布による露出歯根象牙質面に対するプラーク抑制効果について. 日歯周誌, 32 : 642-651, 1990.
- 20) 清水義信, 古沢利武 : 電解による酸化電位水の殺ウイルス, 殺細菌および殺真菌の作用. 歯科ジャーナル, 37 : 1055-1060, 1993.
- 21) 田中宏司, 田中憲二, 吉沼直人, 郷家英二, 汐見登, 伊藤公一, 村井正大 : 歯周疾患罹患歯の露出歯根面への歯垢微生物付着に関する研究—*in vitro*での根面の粗造性が歯垢微生物付着に与える影響について—. 日歯周誌, 27 : 251 (秋季歯周病学会抄録), 1985.
- 22) 小沢経子, 福島陽子, 一色由紀江, 長 裕子, 芝紀代子, 水野徳次, 松尾至晃 : アクア酸化水の消毒効果とその有用性について. 臨床病理, 39 補冊 : 366, 1991.
- 23) Gjermo, P. : Chlorhexidine in dental practice. J. Clin. Periodontol., 1 : 143-152, 1974.

連絡先 :

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座

〒 101 東京都千代田区神田駿河台 1-8-13