

論文題目 グレープフルーツシード種子抽出物
含有ペーストの歯肉炎に対する臨床効果

加藤 直美

大学院歯学独立研究科 健康増進口腔科学講座
(主指導教員:音琴淳一 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士(歯学)学位申請論文

Title: Clinical Effects by the Paste including Grapefruit
Seed Extract on Gingivitis

Naomi KATO

Department of Oral Health Promotion, Graduate School of Oral Medicine
(Chief Academic Advisor : Professor Jun-ichi OTOGOTO)

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. (in Dentistry)

化学的プラークコントロールの1手段として、天然生薬を用いたハーブ系歯磨剤様ペーストを作成し、その臨床効果を検討することを計画した。そこで天然生薬としてグレープフルーツシード（GSE）を選択し、ハーブ系歯磨剤様ペーストを試作し、その臨床効果を検討した。

対象者は、上記研究担当者が所属する医療機関の歯科医院に通院している患者から成人で20歯以上を有しており、歯肉炎、軽度慢性歯周炎の診断後、加療を受けたのち3-4カ月毎に定期的に来院しているメンテナンス患者である。

歯磨剤様ペーストの基材は歯磨剤に用いられているものをベースとし、歯磨剤様ペーストの種類A：2%グレープフルーツシード+基材にて調整、B：0.2%グレープフルーツシード+基材にて調整、C：基材のみとした。

患者における臨床データについては、被験者の研究機関修了後に筆者ならびに共同研究者に送付することとした。

研究担当者は上記の同意が得られたのち、ただちに以下の背景調査ならびに口腔内診査・検査を行った。そのうち、対象部位以外のPMTCを行い、対象歯を対象者とともに確認してからペースト使用方法を再度説明した。

研究開始1週間ならびに4週後に予約を行い、予約当日に研究開始日と同様な背景調査ならびに口腔内診査・検査を行った。さらに有害事象の有無の確認を行った。ただし、X線検査については研究開始1週間には行わなかった。背景調査、歯周チャート（GI、PLI、PPD、動揺度）、デンタルX線写真（口内X線写真：平行法）、細菌学的検査（菌数と運動性菌の割合：図1-1、1-2）、有害事象の判定を行った。

歯磨剤様ペーストは1日2回（起床・朝食後、就寝前）、被験者の行っている通常の機械的プラークコントロール・洗口後に使用した。使用時は1回約5g（1cm）程度の歯磨剤をブラシ毛先に出し、当該部位の頬側と口蓋・舌側の歯肉頂のやや歯肉溝・ポケット寄りに軽く塗布した。塗布後は3時間後までの食事と30分以内の水分補給を禁じた。使用期間は有害事象がない場合、4週間とした。そてい使用直前と使用後1、4週後のデータを比較した。

その結果、有害事象はほとんどなく、さらに歯肉炎症消退に対する効果が1週間の朝晩使用により機械的プラークコントロール以上の効果が期待でき、プラーク付着やポケット減少に悪影響がないことがわかった。また細菌学的検討は詳細な検討が必要であることがわかった。

学位論文

論文題目 グレープフルーツシード種子抽出物
含有ペーストの歯肉炎に対する臨床効果

加藤 直美

大学院歯学独立研究科 健康増進口腔科学講座
(主指導教員:音琴淳一 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士(歯学)学位申請論文

**Title: Clinical Effects by the Paste including Grapefruit
Seed Extract on Gingivitis**

Naomi KATO

Department of Oral Health Promotion, Graduate School of Oral Medicine
(Chief Academic Advisor : Professor Jun-ichi OTOGOTO)

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. (in Dentistry)

緒言

プラーク性歯肉炎(歯肉炎)の原因は細菌性プラークで炎症は歯肉に局限している¹⁾。炎症はプラークコントロールを行うことにより消退するが、患者自身の通常の歯ブラシによる機械的プラークコントロールには限界がある。そのため患者はデンタルフロスや歯間ブラシ等の補助的清掃用具を用いたり、抗菌薬や消毒薬を含有した洗口剤や歯磨剤等を用いる化学的プラークコントロールを行っているが、さらに、残存したプラークに対しては歯科医院において専門家による歯肉縁上下プラークコントロールと機械的歯面清掃(PMTC)を行っている¹⁾。また、炎症の進行によっては抗菌薬や抗炎症薬を使用した化学的プラークコントロールを長期継続しなくてはならず、超高齢社会の現在、抗菌薬の長期使用による耐性菌出現も危惧されている²⁾。そこで化学的プラークコントロールの1手段として、耐性菌出現の報告がないハーブ系天然生薬であるグレープフルーツ種子抽出物(グレープフルーツシードエクストラクト:GSE)含有ペーストを歯肉辺縁へ塗布することによる臨床効果を検討することを計画した。

歯肉炎治療において機械的プラークコントロール時に従来から使用する歯磨剤にはう蝕や歯石沈着予防、抗炎症や殺菌作用、消毒作用など多様な効果を持つ物質が含有している³⁾。今回は東洋医学あるいは西洋医学で用いられている生薬を配合した歯磨剤様容器から歯ブラシに出して歯肉辺縁に利用することとした。

現在まで歯周疾患に対して利用されてきた東洋医学の生薬としては、豆科植物からの抽出液である鶏血藤あるいは排膿散及湯の投薬が知られている^{4, 5)}。前者は鶏血藤水抽出液が過酸化水素やヒドロキシラジカルに対して強力な消去活性を持つ。鶏血藤水抽出液の齶蝕原性細菌や歯周病原細菌、あるいは真菌に対する抗菌活性を調査したところ、*Porphyromonas. gingivalis (P.gingivalis)* *Fusobacterium. nucleatum (F.nucleatum)*, *Veillonella parvual*, *Streptococcus (S.mutans)*等に抗菌活性を示し、*P. gingivalis*, *S.mutans* に効果があるだけでなく、歯肉の末梢血管の拡張や血球成分の凝集(瘀血)を軽減することが示されている⁴⁾。後者は抗炎症作用を持つ甘草、芍薬等が含まれており、さらに鎮痛効果のある生姜、大棗、桔梗も含まれているので急性の炎症時に内服すると効果があるとされている⁵⁾。

一方、西洋医学の生薬としてはマスティックが代表的で、洗口剤や歯磨剤の成分として使用されており、*P. gingivalis*, *F.nucleatum*, *Prevotella intermedia*などに効果的であることが示されている^{6, 7)}。

グレープフルーツシードエクストラクト(GSE)は水またはエタノールで比較的簡便に抽出が可能であり、塩化ベンゼトニウム・塩化ベンザルコニウムが含まれていると報告されている⁸⁾。また、広い抗菌活性を持ち⁹⁾、仁科らは嫌気性菌を含む各種微生物に対して抗菌活性を認め、その安全性についても確認している¹⁰⁾。さらに、GSE中の抗菌活性を示す主要物質は塩化ベンゼトニウムであることが解明され、そのメカニズムとして、微

生物の細胞質膜や細胞壁を破壊することが明らかにされているが¹¹⁾、歯周治療への応用は行われていない。GSEのような安全性の高いハーブ系生薬入りペーストを用いた歯肉炎症に対する効果が検証されていないため、その臨床効果が示されれば、歯肉炎への治療手法の1つになると予測される。

そこで今回、GSEを含有したペーストを試作し、歯肉炎に対する臨床効果を検討した。

対象者及び方法

1) 対象者、対象部位ならびに使用ペースト

(1) 対象者、対象部位の選定

対象者は、研究担当者が勤務する各医療機関に通院している患者のうち、成人で20歯以上を有しており、歯肉炎、軽度慢性歯周炎の診断¹²⁾後、加療を受け治癒したのち、3-4カ月毎に定期的に来院しているメンテナンス患者でプラークコントロールを起床時と就寝時の1日2回行っているものとした。医療機関は7名の研究担当者が勤務する7件の医療機関とした。

研究担当者が口腔内診査を行い、①上下前歯部ならびに下顎小白歯部にプラーク性歯肉炎を有し、頬側・舌側・口蓋側それぞれに歯肉炎指数(Gingival Index¹³⁾:GI)1以上の歯肉炎を確認し、さらに②プラーク指数(Plaque Index¹⁴⁾:PLI)が頬側・舌側・口蓋側それぞれに1以上の部位をペーストを使用する対象とした。さらに、③対象歯に補綴物や修復物を有しない、④対象歯に動揺・外傷性咬合を有しないことを確認した。④については以下に述べるデンタルX線写真撮影にて症状がないことを再度確認した。対象部位は対象者あたり1~3部位とし、複数歯の場合は連続した部位で行った。

その後、ペースト使用を行う対象歯に対するプロービングポケット深さ(PPD, 1歯6点法で計測して平均値を算出)、動揺度(Millerの分類)を通法どおり測定して記録した。

研究担当者は研究参加について研究等倫理審査委員会の承認を得られた本研究内容を対象者候補へ口頭で行った。全ての項目に理解と同意が得られ、同意書に署名をした者を対象者として確定した。

研究・検査内容を周知徹底するために、研究開始前にメーリングリストによる情報共有の後、研究担当者全体の会議ならびに研究中的問題点の有無確認を随時行った。研究期間中も判断に迷う症例は共有し、検査結果が不確定となる症例は対象症例から除外した。

(2) 対象者の除外基準

除外基準としては以下の項目とした。

- ①・ 歯周疾患の進行に関連するとされている全身疾患^{1, 15)}の罹患既往がある者
- ②・ 歯周疾患進行に関与する生活習慣病¹⁾に罹患している者, 喫煙者
- ③・ 感染性疾患に罹患した既往がある者
- ④・ 含有生薬であるグレープフルーツシードあるいはグレープフルーツにアレルギー既往がある者
- ⑤・ 過去1年間, 長期(1週間以上)に互り抗菌薬を内服・外用している者
- ⑥・ 1週間ならびに4週後の来院不能である者

(3) 使用ペースト

使用ペーストは製薬会社(株)三宝製薬, 東京)へ作成依頼した。基材は0.1%グリセリン, 精製水にて調整したものをベースとしており, 安全性を確保した。

使用ペーストは2%GSE+基材(2%GSE), 0.2%GSE+基材(0.2%GSE), 基材のみ(コントロール: Control)の3種類とした。

各ペースト使用に関しては無作為に製作会社が番号を記載したものを無作為に研究者に供し, 研究開始から各医療機関の研究期間終了まで, 使用ペーストの種類は開示しなかった。

(4) ペースト使用方法

通常の機械的ブラークコントロール後に1日2回(朝食後, 就寝前)に使用させ, 以下の使用方法を研究開始時に研究担当者から説明した。

なお, 研究期間中対象者が補助的ブラークコントロールに通常使用する歯磨剤や洗口剤を一切使用しないこととした。

ペーストは塗布するための専用歯ブラシ(tuft®24 MS, デンタルフィット, 日本)を使用した。

使用時は1回約5g(1cm)程度の歯磨剤をブラシ毛先に出し, 当該部位の頬側と口蓋・舌側の歯肉頂のやや歯肉溝・ポケット寄りに軽く塗布した。塗布後は3時間後までの食事と30分以内の水分補給や含嗽を禁じた。

2) 研究スケジュールおよび検査項目

(1) 研究スケジュール(表1)

ペースト使用開始時(0週)においては, 対象部位以外の PMTC を行い, 対象歯肉を対象者とともに確認してから, 前述したペースト使用方法を歯ブラシとサンプルペーストを用いて歯列模型を用いて詳細に説明した。

研究開始1週間ならびに4週後に診療予約を行い, 予約当日に研究開始日と同様に背景調査ならびに口腔内検査を行った。さらに有害事象の有無の確認を行った。ただし, X線検査については研究開始1週間には行わなかった。

(2) 検査項目

使用直前(0週), 使用1週間後(1週後), 4週間後(4週後)に以下の有効性と安全性の評価を実施した.

① 背景調査

被験者に対して検査開始前に以下の項目について調査した.

- ・同意取得日
- ・被験者識別コード(ペーストNoを被験者との照合用)
- ・生年月日
- ・性別
- ・全身既往歴, アレルギーの有無
- ・局所既往歴, プラークコントロール習慣

② 口腔内写真

被験部位の唇頬側および舌・口蓋側画像のデジタル画像撮影を通法に従って施行した. 口腔内写真撮影は歯肉発赤と研究前後の変化の確認のために行った.

③ 口腔内検査

各被験者に対してペースト使用を行う対象歯に対する歯肉炎指数¹³⁾(GI), プラーク指数¹⁴⁾(PII), プロービングポケット深さ(PPD, 1歯6点法で計測して平均値を算出), 動揺度(Millerの分類)を通法どおり測定して記録した.

④ デンタルX線写真 (口内法X線写真: 平行法)

通法に従い, 平行法にて対象部位に対してデジタル画像撮影を施行した. これは外傷性咬合の有無と慢性歯周炎への進行がないことを確認するため, さらに外傷性咬合の診断として, 歯根膜拡大や歯槽骨頂部の骨吸収の有無を診断した.

⑤ 細菌検査

細菌検査は歯肉溝浸出液(GCF)から採取した細菌の嫌気性菌コロニー数変化により評価した.

GCFの採取は対象歯の1歯ずつの歯肉溝に対して, エアーにて乾燥後, 対象歯の頬側近心, 中央, 遠心部に滅菌ペーパーポイント(サイズ#15, JIPPERER Co LTD, Deutschland)をそれぞれ1本, 30秒間挿入して採取した. その後, 滅菌した50 μ lのPBS(Phosphate Buffered Saline; リン酸緩衝食塩水)を入れた1.5mlマイクロチューブ(Instruments BioTek Instruments, Inc, Vermont, USA)に投入し, 攪拌したのち一時4 $^{\circ}$ Cに冷蔵保存した.

細菌検査を行った研究担当者の医療機関からサンプルを採取当日に松本歯科大学に搬送し, 以下の調整を行った.

一時保存したGCF液50 μ lの1/10希釈と1/100希釈のものを作製し, 1倍, 1/10倍, 1/100倍液を50 μ lずつ, 2%Brain Heart Infusion培地(Difco社, 日本BD社, 東京)に播種した. このシャーレを嫌気培養装置(AIAEROBOX, TeHer, 株式会社ヒラヤマ, 埼玉)にて嫌気培養した.

培養後、コロニー数をカウントした。検体1つにつき、3回カウントを行い、その平均値を対象菌のコロニー数とした。

⑥有害事象の判定:

研究担当者の問診と口腔内検査より臨床的異常の有無を判断した。

すなわち、使用1, 4週後において、対象菌の歯肉に自覚症状として疼痛、腫脹、違和感、搔痒感、違和感、出血がある場合、研究担当者が確認し、有害事象として取り扱い、研究を中止あるいは研究対象から除外した。使用期間において、上記自覚症状があった場合は、可能な限り来院ののち、担当医が問診、口腔内診査を行った。

3) 分析方法: 使用直前と使用後1, 4週後のデータを比較した。

臨床データ(GI, PLI, PPD, 動揺度, 有害事象)と細菌データ(細菌検査)に分けて、①各ペーストの結果比較と②研究開始時, 1週後, 4週後それぞれの経時的変化の比較について、該当する統計学的分析を行った。

また、GIとPLIと動揺度の比較はWilcoxon検定を行い、PPDの比較と細菌分析についてはunpaired-*t*-testをSPSS Statistics ver 23.0 (IBM, Chicago, USA)を用いて行った。なお有意水準は $p < 0.01$ とした。

4) 倫理原則の遵守

研究にあたっては以下の条項を遵守した

ヘルシンキ宣言が言明する倫理原則

被験者への十分な説明と、自由意思に基づいた同意

研究協力の任意性と撤回の自由の尊重

研究で得られる個人情報の厳重な取扱いと保護

研究遂行における安全性の確保

被験者のプライバシー厳守の徹底

また以上の被験者を用いた研究方法については、松本歯科大学倫理委員会の承認の下(研究課題 歯肉炎症に対する生薬配合歯磨剤様ペーストの有効性の検証:承認番号 225)で行った。

結 果

1) 被験者

同意を得た被験者の総数は52名であった。このうち、途中来院不能であったり、1あるいは4週のみ来院での脱落者は18名であった。

(1) 2%GSE 使用被験者(2%GSE 群)は11名、男性3名、女性8名、平均年齢

60.2±6.1 歳で、うち細菌検査を行ったのは7名であった。

- (2) 0.2%GSE 使用被験者(0.2%GSE 群)は11名、男性4名、女性7名、平均年齢 56.0±9.5 歳、うち細菌検査を行ったのは8名であった。
- (3) 基材のみ使用被験者(Control 群)は12名、男性3名、女性9名、平均年齢 58.6±8.9 歳で、うち細菌検査を行ったのは9名であった。

各使用群間において年齢は有意差を認めなかった。細菌検査を行った被験者においても年齢の有意差を認めなかった。

2) 使用部位

2%GSE 使用群は19部位、0.2%GSE 群は18部位、Control 群は21部位であった。細菌分析を行った部位数は 2%GSE 群は 12 部位、0.2%GSE 群は 12 部位、Control 群は 15 部位であった。各ペースト使用群の使用部位における歯種の有意差を認めなかった。

3) GI の変化

ペースト使用群間の比較では、0週、1週においてはペースト使用群間の差は認められなかった。4週において 2%GSE 群が Control 群に対して、0.2%GSE 群が Control 群に対して有意に GI は減少していた。(図1-1)

各ペースト使用群における経時的 GI の比較では、それぞれ GI の減少傾向があったが、2%GSE 群と 0.2%GSE 群において、0週と1週および4週において GI の有意な減少を認めた(図1-2)

4) PLI の変化

ペースト間の比較では、0、1、4週ともに Control 群を含めた各ペーストにおける値に有意差を認めなかった(図2-1)。

各ペーストにおける PLI の経時的比較では0週と比較して1週で全てのペースト群ともに有意に減少していた。また0週と4週の比較でも同様に有意に減少していた(図2-2)

5) PPD の変化

各ペースト使用群における PPD については、0、1、4週それぞれ各群の有意差を認めなかった(図3-1)。また各ペースト使用群ともに0週から1、4週へ減少したが、有意差を認めなかった。(図3-2)

6) 動揺度の変化

全てのペースト使用群について0週から1、4週にわたって、動揺度は0であり、研究期間中の変化が無かった。そのため各ペースト使用群の差異を認めなかった。

7) 細菌検査:コロニー数の変化

各ペースト使用群において、0週、1週および4週における差異を認めなかった(図4-1)。

また経時的比較では、各ペースト群ともに0週と比較して、1週、4週において有意に減少していた(図4-2)。

8) 有害事象の出現について

すべてのペースト使用群においてアレルギー症状を含む使用時・使用中・使用後の特記すべき症状は見られなかった。

1名のみ 0.2%GSE 群において知覚過敏を使用部位に訴えた患者がいたので結果から除外した。

考 察

1) 対象者について

本研究ではメンテナンスに定期的に来院している患者を対象とした。歯周治療未経験者であれば検討対象として理想であるが、治療期間中プラークコントロールが安定しているかどうかを危惧される。その点、メンテナンスを継続している来院患者で、全顎的には慢性軽度歯周炎程度であり、今回のように歯周疾患に関与する全身疾患や生活習慣がない患者であれば、プラークコントロールへのモチベーションもあり、安定したプラークコントロールを行う技術や実績を伴っていると考えられる。

本研究の発想に至った経緯は、このように安定したプラークコントロールを行っている患者であっても、メンテナンス来院時に一部の歯肉が炎症を発症している症例は少なくなく、歯肉炎症の原因が患者自身におけるプラークコントロール不良である場合に、今回使用するようなペーストを化学的(補助的)プラークコントロールとして使用することにより消炎効果が期待できると推論したからである。

本研究の結果では、GSE 含有ペーストは歯肉炎の軽減に効果的であった(図1-1, 2)。今回は研究開始時に、対象者には当該部位に炎症があることを説明したため、被験者自身が意識してプラークコントロールを行い、結果を出したことも推察される(図2-1, 2)。対象歯を被験者へ伝える調査はこの点が効果検証に難しいことが示された。

2) 使用した GSE と使用方法について

今回はハーブ系生薬として GSE を用いた。GSE の抗菌効果は検証されており⁹⁻¹¹⁾。GSE の最小発育阻止濃度は、細菌の場合は 0.001-0.05% 程度と言われている¹²⁾。また従来の研究では類似のグレープシード洗口剤に含有させることによるプラーク中の細菌総数減少効果が認められ¹⁶⁾、洗口剤の GSE 濃度計算では 10% 程度であり、国内外で販売している GSE 配合消毒剤を調査すると 0.1~10% 程度のものであったため、今回のペースト含有濃度はこの範囲に順じて最低では 0.2% GSE 配合ペーストとし、さらに効果を確実となることを期待して 10 倍濃度となる 2% GSE ペーストを作成し、研究に使用した。

また、食事に混入(数%含有)させることによるラットの歯肉炎症の進行抑制効果等

が報告されている¹⁷⁾。しかし、ヒトに対する歯磨剤様ペーストとしての使用および歯肉炎症消退、プラーク沈着抑制、GSE 使用による有害事象などに関する報告はなかった。

そこで、今回、歯肉炎症部位を患者に指摘し、その部位に直接患者が自ら塗布することができるように、多くの患者が使用に違和感がないようにソフトチューブにより歯ブラシに載せ、対象部位へ対処できるような環境を付与した。本法は、使用ペーストが有効であった場合に、簡便に多様な使用方法に繋がることを想定して設定した。

3) 歯肉炎症抑制について

GI の変化については、1週目から2%GSE, 0.2%GSE 使用群ともに指数が有意に減少していた。(図1-1, 2)。

プラセボの Control 群と比較しても有意に減少していたため、本ペーストが歯肉炎の抑制効果に期待できる。

4) プラーク付着抑制について

被験者はプラークコントロールを以前の治療で習得した患者であり、対象となる歯(面)も特定されているので、上記に述べたように患者のプラークコントロールの意識が指摘により回復するに伴い、その結果、「1週目における」プラーク付着が有意に減少した(図2-1)。

しかし、プラーク付着は研究開始時から1週目以降有意に減少し、その状態が使用期間の4週間持続した(図2-2)ということは、GSE の抗菌効果が推察できる。しかしながら、Control 群においてもプラーク付着減少がみられたので、本結果から本使用ペーストの基剤による物理的効果も認められたと考察できる。

5) PPD と動揺度の変化について

PPDについては、減少傾向があるものの、使用ペースト間において有意な差を認めなかった(図3-1, 2)。

この結果から、本ペーストを利用することによる歯肉炎における発赤の減少において効果が認められたが、プラーク性歯肉炎の初期に起こる腫脹の減少にはそれほど効果的でなかったことも推察される。

動揺度は研究開始時から終了時まで大きな変化がなかったことから研究期間中の外傷性咬合等の問題はなかったことが示された。

6) 細菌検査について

細菌検査では歯肉縁下プラーク採取サンプルを培養し嫌気性菌のコロニー数をカウントした。その結果、どの使用ペースト群においても1週以降において細菌数の減少を認めた。しかし、この結果が、GSE 配合ペーストによる抗菌効果を明確に証明したとは言い難い。歯肉縁上プラークの除去された結果(図4-1, 2)、歯肉縁下の環境が変化したためと考えられるからである。今回は細菌検査方法として技術的な問題と費用的な問題から詳細な検査方法を行うことが出来なかった。ポケット内細菌に対しては、進行した歯周疾患に対して精査する予定である、慢性の中等度以上の歯周疾

患に対するGSE配合ペースト使用による抗菌効果の検討の際への課題を残した。

7) 有害事象について

有害事象は1名で、歯肉炎症消退に伴う歯肉退縮に誘引した知覚過敏によるものであった。知覚過敏症状はVASが28と軽度であり、1回のフッ化物塗布による知覚過敏処置により治癒した。

4週間の使用においては有害事象がほとんどなく、使用感においても感想として、「やや薬臭い」という感想が2%GSE使用群やContol群でそれぞれ1例、2例見られたが、常用するにあたり支障はないということであった。研究全体を通じて特に問題が無かったので、GSE含有ペーストについては、歯肉炎において、ある程度の期間(今回の結果では1週ほどで良いと考えられるが)使用に耐えられるものと推察される。

8) 将来の展望について

今回はGSEペーストを4週間使用することを検討した。その理由としては、一般歯科医院でも患者来院の可能性のある時期を共同研究者とあらかじめ考慮したことと、現在使用されているペリオフィール歯科用軟膏は4週間に週1回ずつ投与することが可能¹⁾であることからこれに準拠したためである。

本実験の対象者において可能かつ同意が得られた症例においては、長期に使用する(対象部位は4週後に変更)事例もあったが、4-8週の使用において特に有害事象がなかったため、さらに長期事例を検討する予定である。

今回の結果から本ペーストはプラーク性歯肉炎の炎症消退に効果的であり、さらに細菌検査の結果から歯肉縁下の嫌気性菌に効果的に働く可能性が残されていることから、深いポケットを有する慢性歯周炎患者や急性症状の歯肉炎症、インプラント周囲粘膜炎などに対する効果を以降検証する所存である。

結 論

GSE含有ペーストを作成し、プラーク性歯肉炎を有する患者および患歯に対して4週間使用した結果、歯肉炎に対して効果が期待できると考えられた。

有害事象はほとんどなく、さらに2%と0.2%GSEペーストは使用1週から4週目までGIを抑制した。歯肉炎症消退に対する効果が朝晩使用により機械的プラークコントロール以上の効果が期待でき、プラーク付着やポケット減少に悪影響がないことがわかった。

謝 辞

本研究に際し、終始ご指導、ご鞭撻を賜りました松本歯科大学大学院歯学独立研究科、健康増進口腔科学講座、音琴淳一教授に深甚なる感謝の意を表します。また、多大なるご指導を戴きました松本歯科大学細菌学講座 吉田明弘教授ならびに松本歯科大学大学院健康増進口腔科学講座、山本昭夫教授ならびに大須賀直人教授に深謝致します。

最後に臨床データ採取にあたっては、臨床研究の共同研究者であるデザインデンタルクリニック鈴木光男先生、とつかグリーン歯科渡辺秀司先生、山本歯科クリニック山本朋章先生、小坂歯科医院小坂茂先生、窪田歯科医院窪田裕一先生に深謝致します。

参考文献

- 1) 特定非営利活動法人 日本歯周病学会編(2016)歯周治療の指針 2015, 3歯肉病変の特徴, 6全身的因子と歯周病, 8歯周基本治療, 3-細菌感染に対する処置, 4-化学的な歯肉縁下プラークコントロール. 12-3, 15-7, 37, 40-1, 第1版, 医歯薬出版, 東京.
- 2) 特定非営利活動法人 日本歯周病学会編(2011)歯周病患者における抗菌療法の指針 2010, 2-3 臨床質問:細菌検査, その他, 3抗菌療法の関連・基礎知識3)薬剤耐性について. 56-63, 75-6, 第1版, 医歯薬出版, 東京.
- 3) 和泉雄一編(2009)ザ・ペリオドントロジー:鈴木丈一郎, 新井高:第4章歯肉炎および慢性歯周炎における治療法3)プラークコントロール2. 化学的方法, 123-5, 永末書店, 京都.
- 4) 遠山 歳三, 澤田 智史, 高橋 祐介, 李 昌一, 浜田 信城, 塗々木 和男(2011)齶蝕ならびに歯周病原菌に対する鶏血藤の殺菌効果. 歯薬療法 30, 51-6.
- 5) 王 宝禮(2014)口腔疾患への立効散, 排膿散及湯, 白虎加人參湯, 五苓散, 半夏瀉心湯, 茵陳藁湯, 黄連湯を用いた薬物療法. 歯薬療法 33, 32-44.
- 6) Thuill N, Fille M and Nagl M (2003) Bactericidal activity of herbal extracts. Int J Hyg Environ Health 206, 217- 21.
- 7) 渡辺 久, 萩原 さつき, 和泉 雄一(2010)音波振動歯ブラシとマスティック配合歯磨剤の慢性歯周炎に対する臨床的・細菌学的効果. 日歯保誌 53, 123-32.

- 8) von Woedtke T, Schlüter B, Pflugel P, Lindequist U and Jülich WD.(1999) Aspects of the antimicrobial efficacy of grapefruit seed extract and its relation to preservative substances contained. *Pharmazie.*, 54, 452-6.
- 9) 杵川洋一(2001)グレープフルーツ種子抽出物の特性とその応用. 月刊フードケミカル, 8, 36-43.
- 10) 仁科淳良, 木原 浩, 内堀 毅, 大井 高(1991)グレープフルーツ種子抽出物 DF-100 中の抗菌成分. 防菌防黴誌 19, 401-4.
- 11) Takeoka G, Dao L, Wong RY, Lundin R and Mahoney N (2001) Identification of benzethonium chloride in commercial grapefruit seed extract. *J Agric Food Chem*, 49, 3316-320.
- 12) 特定非営利活動法人日本歯周病学会編:歯周病の検査・診断・治療計画の指針(2011)第一版, 43, 医歯薬出版, 東京.
- 13) Silness J and Løe H (1964) Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*, 22, 121-35.
- 14) Løe H and Silness J (1964) Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand*. 21,533-51.
- 15) 特定非営利活動法人日本歯周病学会編:歯周病と全身の健康(2016), 第一版, 1-16, 医歯薬出版, 東京.
- 16) Singla S, Malhotra R, Nd S and Saxena S.(2018) Antibacterial Efficacy of Mouthwash Prepared from Pomegranate, Grape Seed and Guava Extracts against Oral Streptococci: An in Vivo Study. *J Clin Pediatr Dent*. 42, 109-13.
- 17) Özden FO, Sakallioğlu EE, Sakallioğlu U, Ayas B and Erişgin Z.(2017) Effects of grape seed extract on periodontal disease: an experimental study in rats. *J Appl Oral Sci*.25, 121-9.

付図表

表1 検査項目およびスケジュール

- 図1-1 歯肉炎指数(GI)の差異:ペースト間の比較
- 図1-2 歯肉炎指数(GI)の差異:経時的変化
- 図2-1 プラーク指数(PLI)の差異:ペースト間の比較
- 図2-2 プラーク指数(PLI)の差異:経時的変化
- 図3-1 ポケット深さ(PPD)の差異:ペースト間の比較
- 図3-2 ポケット深さ(PPD)の差異:経時的変化
- 図4-1 細菌検査(コロニー数の変化)の比較:ペースト間の比較
- 図4-2 細菌検査(コロニー数の変化)の比較:経時的変化

付図表と説明文(1)

表1 検査項目およびスケジュール

被験者選択には同意取得と背景調査としての問診を実施した。同日(0週)に歯肉プラーク指数(PLI)、ポケット深さ(PPD)動揺度検査ならびに口腔内写真撮影を行った。有害事象の有無の確認は使用後1, 4週後(1週, 4週)に行った。

図1-1 歯肉炎指数(GI)の差異:ペースト間の比較

使用後4週において2%GSE ペースト使用群と0.2%GSE ペースト使用群のGIはControl ペースト群と比較して有意に($p<0.01$)低かった。

図1-2 歯肉炎指数(GI)の差異:経時的変化

2%GSE ペースト使用群と0.2%GSE ペースト使用群のGIは0週(使用直前)と比較して使用1週後と4週後で有意に($p<0.01$)低かった。

図2-1 プラーク指数(PLI)の差異:ペースト間の比較

各ペースト使用群のPLIは0週(使用直前), 1週, 4週において有意差を認めなかった($p<0.01$)。

図2-2 プラーク指数(PLI)の差異:経時的変化

各ペースト使用群の PLI は 0 週 (使用直前) と比較して使用 1 週後と 4 週後で有意に ($p < 0.01$) 低かった。

図 3-1 ポケット深さ (PPD) の差異: ペースト間の比較

各ペースト使用群の PPD は 0 週 (使用直前), 1 週, 4 週において有意差を認めなかった ($p < 0.01$)。

付図表と説明文 (2)

図 3-2 ポケット深さ (PPD) の差異: 経時的変化

各ペースト使用群の PPD は 0 週 (使用直前) と比較して使用 1 週後と 4 週後で有意に ($p < 0.01$) 低かった。

図 4-1 細菌検査 (コロニー数の変化) の比較: ペースト間の比較

各ペースト使用群の細菌検査の結果であるコロニー数は 0 週 (使用直前), 1 週, 4 週において有意差を認めなかった ($p < 0.01$)。

図 4-2 細菌検査 (コロニー数の変化) の比較: 経時的変化

各ペースト使用群の細菌検査の結果であるコロニー数は 0 週 (使用直前) と比較して使用 1 週後と 4 週後で有意に ($p < 0.01$) 低かった。

表1 検査項目およびスケジュール

	使用直前	使用1週間後 (±1日)	使用4週間後 (±1日)
同意取得	○		
背景調査(問診) <small>全日本卓球選手権大会女子シングルス 決勝</small>	○	○	○
X線写真撮影	○		○
歯周チャート	○	○	○
細菌学的検査	○	○	○
有害事象		○	○

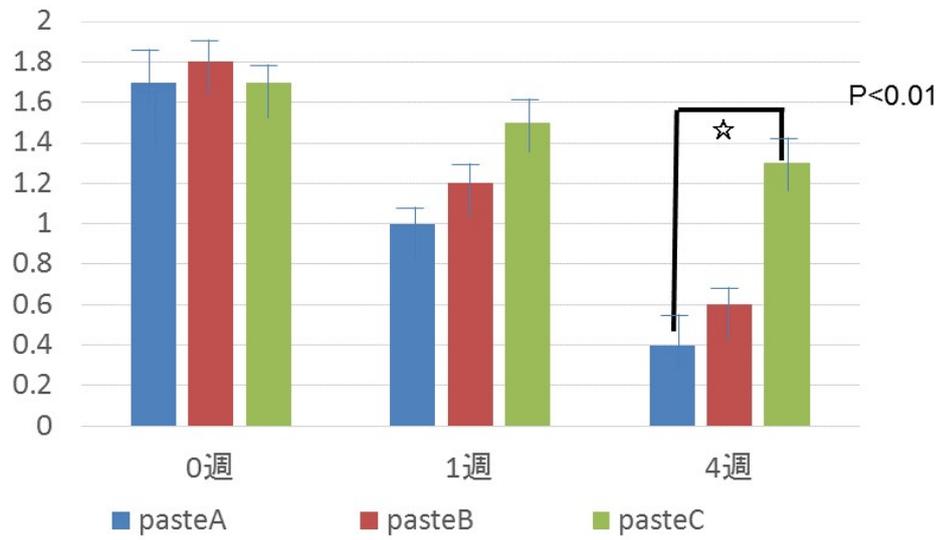


図1-1:GI(歯肉炎指数)の差異:ペースト間の比較

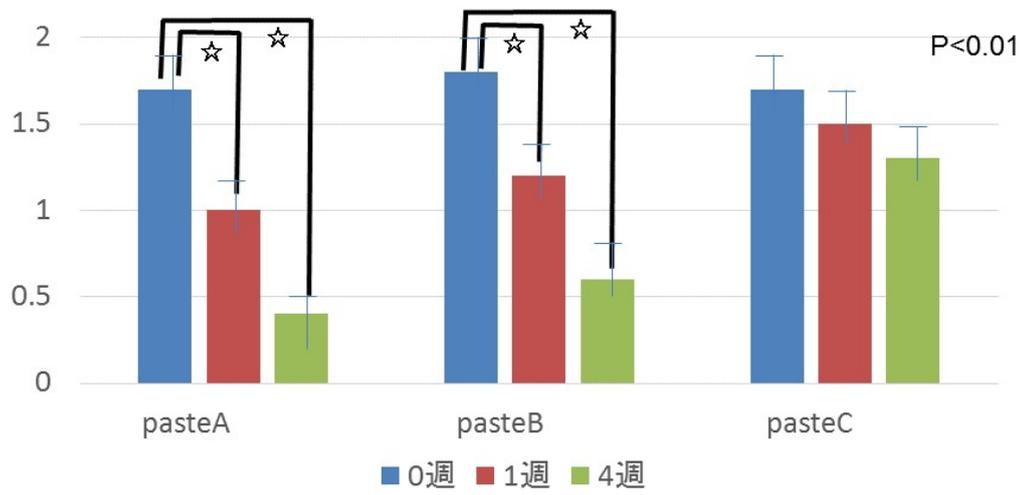


図1-2: GI(歯肉炎指数)の差異:経時的変化

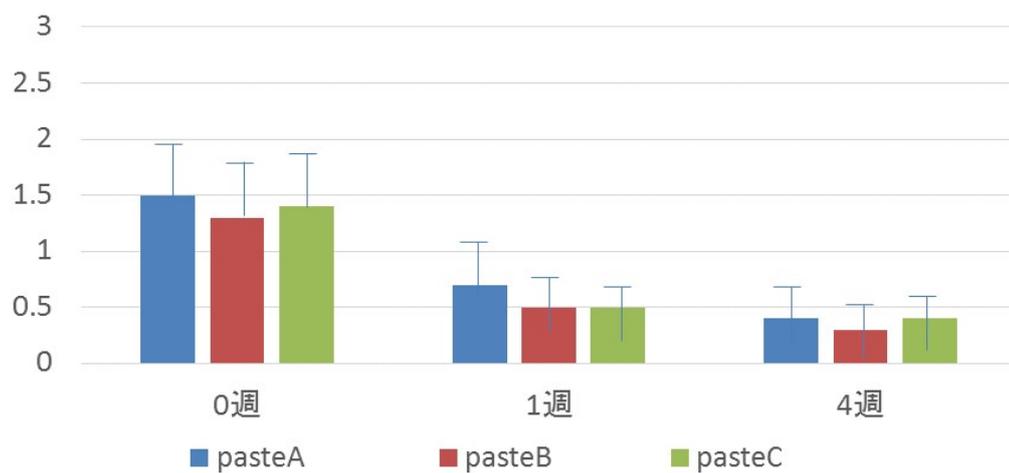


図2-1: PLI(プラーク指数)の差異:ペースト間の比較

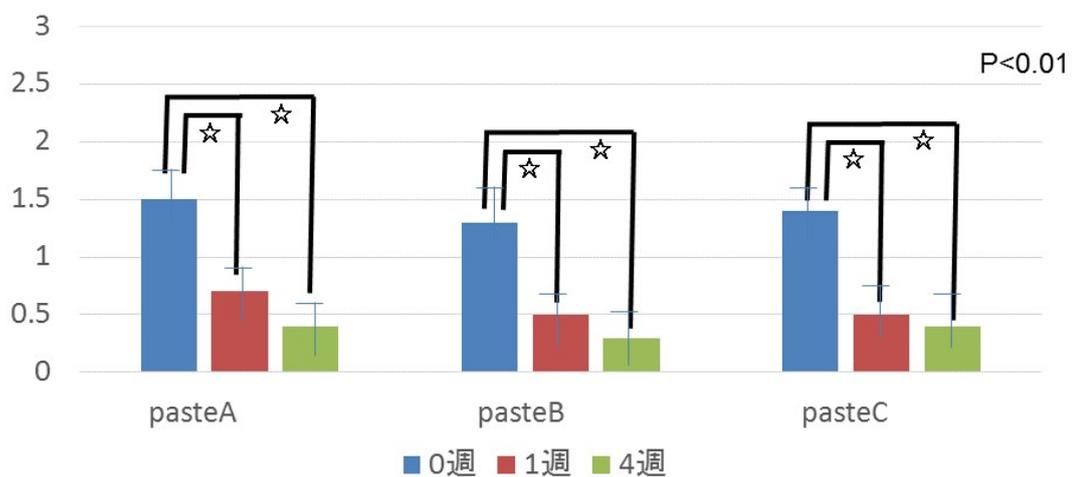


図2-2: PLI(プラーク指数)の差異:経時的変化

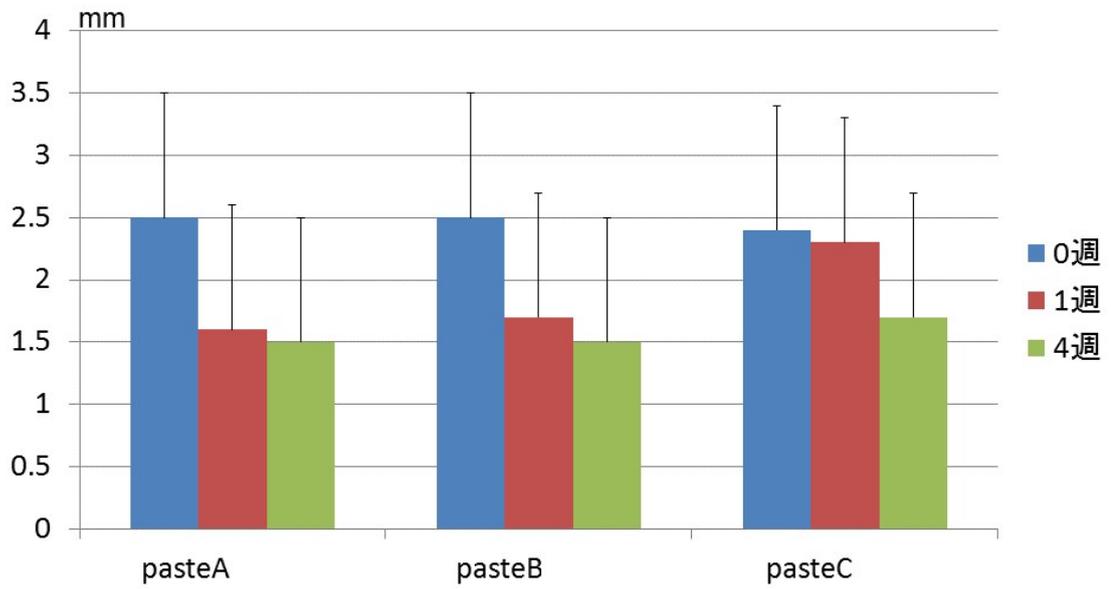


図3-1: PPD(ポケット深さ)の差異: ペースト間の比較

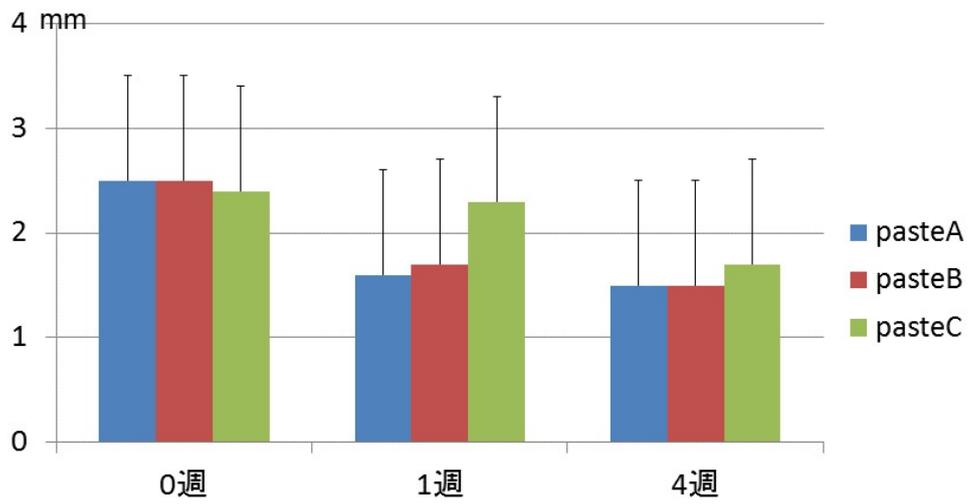


図3-2: PPD (ポケット深さ) の差異: 経時的変化

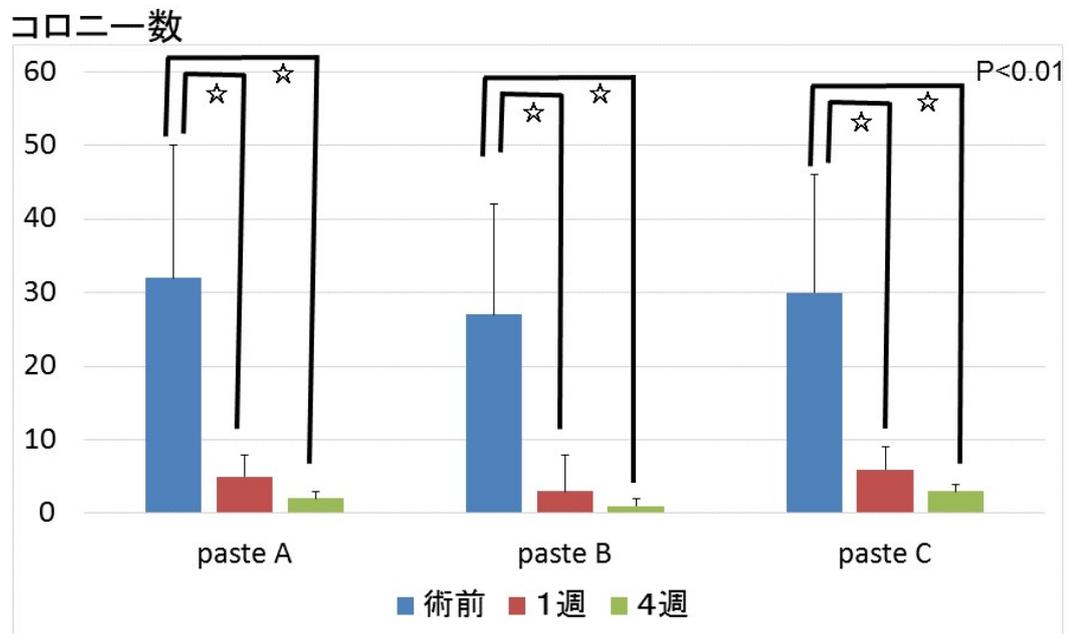


図4-1:細菌学的検査(コロニー数の変化)の比較
:ペースト間の比較

コロニー数

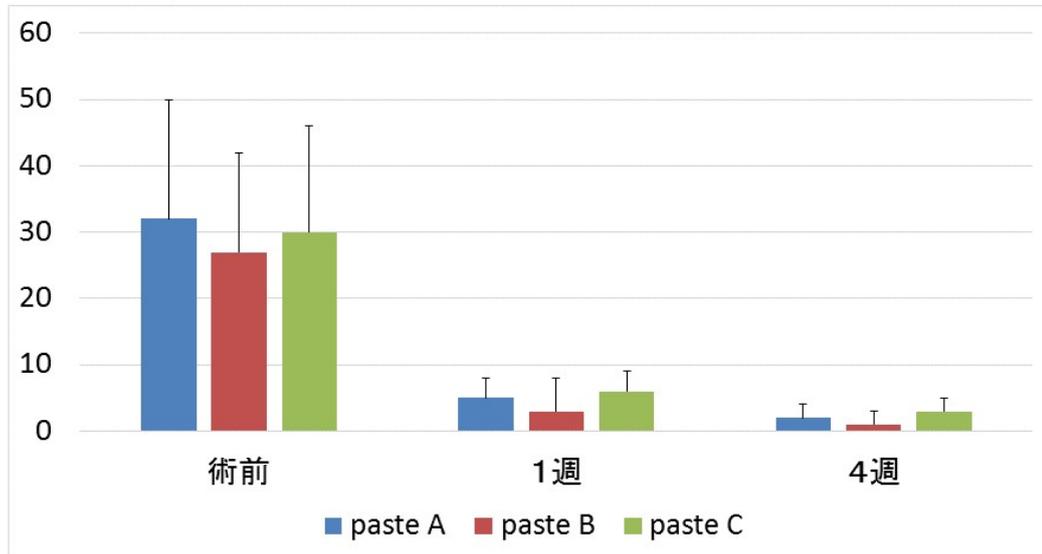


図4-2:細菌学的検査(コロニー数の変化)の比較
:経時的変化