

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659981

研究課題名（和文）

機能性糸を用いた生体硬組織・軟組織の完全清掃法の開発と臨床への応用

研究課題名（英文）

Development of the debridement method of soft and hard tissues with novel functional strings

研究代表者

伊藤 恵美 (ITO EMI)

東北大学・大学院歯学研究科・技術一般職員

研究者番号：80596817

研究成果の概要（和文）：細菌性バイオフィルムの除去効率の評価法を確立し、歯垢除去に応用できる機能性糸の基礎的・臨床的基盤を確立した。機能性糸のデンタルフロスや綿棒への応用では、硬組織のバイオフィルム除去効率が高く、軟組織である粘膜への為害性がないことが確認された。この成果から、機能性糸は、口腔のみならず全身の医療に応用可能である可能性があり、あらゆる生体表面・内面の硬組織・軟組織の清掃法に新たな臨床応用が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The evaluation method of the effectiveness of biofilm removal was innovated and fundamental bases of researches and applications of novel functional strings were developed. Clinical application of novel functional strings, such as dental floss or swab sticks, revealed the high performance of biofilm removal and high biological compatibility with human oral mucosa. These results indicated the possibility of wide ranges of clinical application of novel functional strings, not only for oral hygiene but also for general medical use. The debridement method by using novel functional strings might be one of the best cleaning methods for every surface of human bodies, including soft and hard tissues.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学

キーワード：歯垢、機能性糸

1. 研究開始当初の背景

高齢者の口腔ケア時には、特に口腔乾燥症の症例や肢体不自由な方の口腔清掃に大きな問題を抱え、さらに、大規模病院では抗がん治療時の副作用である口腔粘膜の疼痛・潰瘍を含めたトラブルも多く、口腔清掃法の抜本的な改善が必要である。口腔内は清掃の視点からは特殊な部位であり、唯一硬組織が生体表面に露出している歯に微生物塊である歯垢が付着する。また、口腔内は粘膜上皮と錯角化上皮が存在し、唾液の分泌量や口呼吸

などが反映される口腔内湿潤度によって、表面の性状や汚れの付着度が大きく影響される。特に舌苔は、舌表面の糸状乳頭に微生物塊が絡まって付着しているものである。これらの生体表面に付着するバイオフィルムである歯垢と上皮表面の付着物の清掃には、歯ブラシなどの機械的清掃用具が使用されてきたが、百年以上も大きな技術的な革新が無い状態である。特に歯間部の清掃に関しては、清掃器具の挿入方向が限られ、均一に歯面に圧をかける方向も方法も限れる条件下では

完全なバイオフィルムの除去が難しい。これが、歯科の二大疾患である齲蝕と歯周疾患の発症部位となる。即ち、齲蝕は清掃が難しい歯間部接触点周囲の隣接面齲蝕、歯周疾患では初発部位の歯間部歯肉の歯垢による炎症発生が問題となる。

我々は数年前からこの清掃性の問題に注目し、清掃の機能を高めた新素材に関する予備実験と検討を重ね、本申請研究へと至った。

2. 研究の目的

生体表面のバイオフィルムの清掃を行う場合は、清掃体の機械的な擦過が基本となるが、特に抗がん治療や口腔乾燥症で痛んだ粘膜面や歯の表面などの清掃は、特別な配慮のある清掃方法が必要となる。本研究では、清掃体の形態やその擦過方法に加えて、清掃体そのものに清掃機能を持たせた新しい素材を用いて、様々な生体表面に対する安全で効率の高い清掃法を提案する。また、医科、及び、歯科の医療分野では、特に生体内に植立・繫留された人工物の表面に生成するバイオフィルムが医療上の大きな問題になっている。特に心臓置換弁や中心静脈カテーテル・尿道カテーテルなどの生体内に設置する治療器具表面への細菌性バイオフィルムの付着と、さらに歯科の二大疾患である齲蝕と歯周疾患の直接原因となる細菌性の歯垢の付着が代表例である。本申請研究では、歯垢といった最も身近なバイオフィルムを除去する機能性糸の開発を通して、生体バイオフィルムの新たな効果的機能的除去法を確立し、歯科の二大疾患の発生を大きく予防する手段を提供する。さらに開発した効果的な細菌性バイオフィルム除去法を医学分野に展開し、前述の生体内の人工材料の表面に生成されるバイオフィルムの効果的な除去・清掃法に応用することが可能になれば、治療後に予後を左右して生命を危険に曝すバイオフィルム由来の感染症への治療の選択肢が広がり、高度医療に伴う副作用のリスクを大きく下げることになるであろう。また、生体硬組織と軟組織両方の表面の清掃方法を提案するので、手術創の清掃や炎症のある粘膜などの処置法を大きく変える可能性が有る。すなわち、これまで注目されていなかった生体表面の完全清掃法について革新的な変革をもたらす可能性がある。

3. 研究の方法

(1) 細菌性バイオフィルムである歯垢の除去効率の評価法の確立

機能性糸の細菌性バイオフィルムである歯垢の除去効率を評価するために、バイオフィルム擦過除去評価実験システムを構築した。即ち、一定の張力の糸を均等な接触圧で

バイオフィルムに押しつけて、一定速度と移動距離を擦過するシステムである。本申請研究の予備実験として制作したバイオフィルム擦過除去評価実験システムに多くの改良点を加え、バイオフィルム擦過除去評価実験システムを完成させ、以後の評価実験に供した。

細菌性バイオフィルムの実験モデルには、ショ糖添加培養液中で培養された齲蝕原性細菌のミュータンスレンサ球菌のバイオフィルムを使用した。これまでの予備実験からは、*Streptococcus mutans* 及び *S. sobrinus* の培養液中にハイドロオキシアパタイト片やガラス片を静置すると、その表面にバイオフィルムが生成されるので、それを実験に使用した。本実験では、バイオフィルム擦過除去評価実験システムの試料台に合わせた固体平面上に上記の細菌にて、バイオフィルムを培養・生成する。評価用バイオフィルムの制作には、準備を含めて3日間を要した。

また、一般的な拭き取り試験用の油脂などの塗布面の清掃実験も、本バイオフィルム擦過除去評価実験システムにて実験が行われた。

細菌性バイオフィルムの除去効率の評価には、実験の目的でその擦過方法が変わるが、機能性糸のフロスとしての評価時は、生成した細菌性バイオフィルムを試験糸にて規格化擦過を行い、表面に残ったバイオフィルムを歯垢顕示液で染色・洗浄後に規格化写真撮影を実施して、その色の付着の有無、もしくは濃淡を計測した。予備実験では、生物由来のバイオフィルムなので、読み取り値のばらつきが大きく、再現性を高める工夫が必要であり、同時に実験に供するバイオフィルムの擦過実施数がある程度確保する必要性があった。

(2) 細菌性バイオフィルムの除去効率の高い機能性糸の開発とデンタルフロスへの応用

制作したバイオフィルム擦過除去評価実験システムを用いて、機能性糸の擦過除去効率の評価を実施した。この実験には、機能性糸の供給元である研究協力者の柴田が全面的にバックアップし、機能性糸の評価に従って、除去効率の最高の糸を調整、供与していただいた。糸には一本の糸の太さや形状だけではなく、ねじれや撚り数などの様々な評価パラメータがあり、それを確認して最終的にバイオフィルム除去効率の高い幾つかの糸を選択した。

実際のフロスでの応用は、口腔内バイオフィルムの除去を最終目的であるので、口腔内バイオフィルムを採取して、バイオフィルム擦過除去評価実験システムを用いて選択された糸の実際の歯垢除去効率を検証することとした。口腔内バイオフィルムを採取には、整形した hidroオキシアパタイト片をマガジンラック状に詰め込んだ口腔内設置型バイオフィルム採取装置を使用した。本装置を口腔内に設置し3日間生育させた歯垢を採取し、口腔内バイオフィルムである歯垢を採取した。

これらの実験を通して、口腔内バイオフィルムの除去効率のすぐれた機能性糸を選択し、最終的な口腔内歯垢除去実験を実施した。インフォームドコンセントを得られた実験協力者の口腔内と特定部位の口腔清掃を3日間停止して歯垢を蓄積し、歯垢顕示後に写真を撮影し、その部位をフロスホルダーにセットした機能性糸やその形成品で歯垢除去を実施した。再び歯垢顕示後に写真を撮影し、その歯垢除去能を評価する。同時に使用感や歯肉の傷害性のないことを質問紙調査と口腔内診査にて確認する。これらの実験をもって、硬組織の清掃に最適な細菌性バイオフィルム除去用機能性糸の選択を行った。

(3) 粘膜清掃用の機能性清拭評価法の確立と最適な粘膜清掃用具の提案

前述の実験にて、バイオフィルム除去に最適な清掃体の提案がなされたが、それが実際の口腔清掃に最適であるとは限らない。本実験では、実際に口腔内清掃器具を、機能性糸を用いて制作し、口腔に有効であるかを検証した。

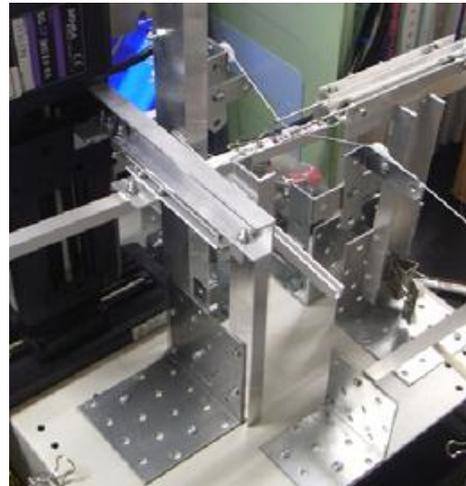
口腔ケア用綿棒（機能性糸を使用）、スポンジブラシ、軟毛歯ブラシ、および、口腔ケア用不織布を、清掃用具として本実験に用いた。被験者は前日からブラッシングを中止した歯科衛生士学生2年生15名である。実験は上顎前歯の歯垢の染め出し後、右側と左側に分け別々の清掃用具にて歯垢除去をしてもらった。2日後に前回と同じ清掃用具を用い反対の部位を同様に清掃した。清掃前後の写真と比較し、近心豊隆部上の歯垢残量面積を評価した。操作感については、アンケート調査を行った。

4. 研究成果

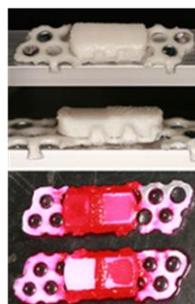
(1) 細菌性バイオフィルムである歯垢の除去効率の評価法の確立

機能性糸の細菌性バイオフィルムである歯垢の除去効率を評価するために構築したバイオフィルム擦過除去評価実験システム

は、糸状の検体の場合は張り（撚りの状態や糸の変形やねじれ、硬さ等の性状に影響）、被擦過体への圧接の力、擦過スピードと擦過距離、繰り返回数等を設定でき、あらゆる擦過状態を再現性良く再現できる。また、固形状の物質でも固定が可能なものであるならば、同様に擦過の条件を自由に設定できる（下図）。



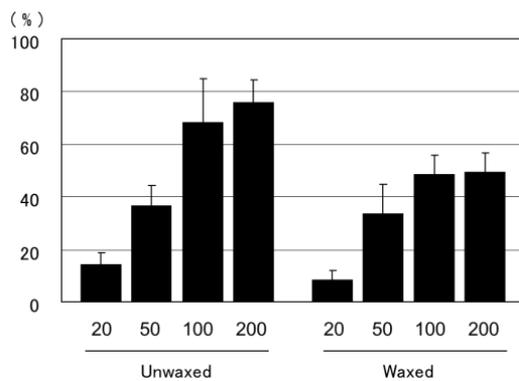
実験モデルとして制作した細菌性バイオフィルムには、hidroオキシアパタイト片上に蔗糖溶液中で培養された *Streptococcus mutans* 及び *S. sobrinus* のバイオフィルムを約0.5mmの厚さで積層することが可能であったが、バイオフィルム自体が蔗糖から酸を代謝して産生し、酸性化するためにhidroオキシアパタイト表面や溶解し、結果的にはバイオフィルムが剥離する現象が発生した。この対策として、培養時間を短縮し、培地の緩衝能を強化し、さらに培地の交換時期をpHの下がる前に行う等の特別な処置が必要であった。一方、ガラス面に付着させた *Streptococcus mutans* 及び *S. sobrinus* のバイオフィルムは酸性化で剥離することはなく、安定して付着バイオフィルムを制作することができた。制作した細菌性バイオフィルムを、歯科用フロスで1回擦過し、その後歯垢染色液でバイオフィルムを顕示化した写真を下に示す。各擦過面は、hidroオキシアパタイト片の圧接の力を変えた条件で擦過し、その細菌性バイオフィルムの除去の違いが明白である。これを画像化して付着面積を算出し、細菌性バイオフィルムの除去効率を算出した。これらの装置を駆使することにより、細菌性バイオフィ



オルムである歯垢の除去効率の評価法を確立した。

(2) 細菌性バイオフィルムの除去効率の高い機能性糸の開発とデンタルフロスへの応用

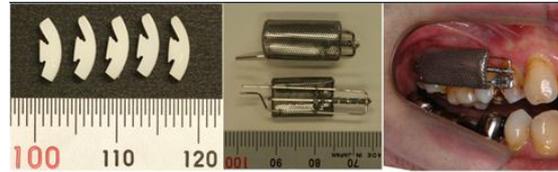
開発したバイオフィルム擦過除去評価実験システムを用いて、ガラス面に付着させた *S. sobrinus* のバイオフィルムを、市販のフロスを用いてバイオフィルム除去能の比較を行った。糸の張力を 200gF に設定し、各 gF にてバイオフィルムに押しつけて 1 回 6mm の距離を擦過して、バイオフィルム除去能を比較した。ワックス付きフロス (waxed, Johnson&Johnson 社製) の方は、糸が面を滑り歯垢内に食い込みにくかったために除去効率は、歯垢に食い込みやすかったワックス無しフロス (unwaxed) と比較して評価値として低かった。どちらのフロスもガラス面に押しつける力が増加するに従って除去効率も上昇したが、100gF 以上の力では除去効率は上がらなかった。



市販のフロスと糸の表面形状に変化を持たせた機能性糸の歯垢除去効率を比較評価した。用いた機能性糸は、表面形状に様々な工夫がされており、これらの多くの機能性糸の評価を、糸の性状や実験条件を変えて実施した。最終的にバイオフィルム除去効率の高い糸として、表面に大きな溝がある糸と角のある糸の混紡糸、角のある糸、溝のある糸の 3 種を選択し、その除去効率を調べると、ワックス無しフロスの 3 から 5 倍の除去効率のある機能糸を見つけることができた。

口腔内設置型バイオフィルム採取装置を用いた口腔内バイオフィルムの採取では、ある程度の試験片をラックに詰めて口腔内に設置すると、ある程度の大きさになり、全てのハイドロオキシアパタイト片全体に均質なバイオフィルムの採取が難しい状況であった。試験片上のバイオフィルムの面積も大きくないことから、本装置を用いた実験で、

一定数の均質なバイオフィルムを採取するよりも、むしろ広い面積でそれを面状で分割して実験を行う実験目的が適切であるとの判断から、本装置による口腔内バイオフィルム採取と除去実験はこの時点で中断した。本装置は、将来的なバイオフィルムの解析に使用するために重要な装置開発を行った成果を上げた。



(3) 粘膜清掃用の機能性清拭評価法の確立と最適な粘膜清掃用具の提案

(2) の実験にて、バイオフィルム除去に最適な清掃体の提案がなされたが、それが口腔内表面の清掃に最適であるとは限らない。即ち、清掃効率の高さは口腔内に過剰な刺激を多く加えてしまう可能性が有るからである。本実験では、選択した機能性糸を評価のために綿球状に整形し、実際に口腔清掃を実施した。口腔ケア用綿棒 (機能性糸を使用)、スポンジブラシ、軟毛歯ブラシ、および、口腔ケア用不織布を、清掃用具として使い、二日間蓄積させた口腔内歯垢の隅角部除去効率は、高い順に、綿棒、歯ブラシ、スポンジブラシ、不織布で、綿棒が有意に高かった。綿棒が最も高い歯垢清掃効率であったのは、機能性を持たせた糸で製作されているため清掃性が高く、水や唾液に触れても形の変形が少なく歯頸部に沿わせ易いためと考えられる。さらに、他の清掃用具よりも小さく、粘膜炎に触れない配慮の必要な方への清掃に適している。また、水に浸して使用する必要がないことから、誤嚥の危険のある方への使用も有効であると思われる。一方、操作感のアンケート結果では、歯垢が取れていると感じている学生は、綿棒、軟毛歯ブラシ、スポンジブラシ、不織布の順で高かった。

機能糸使用の綿棒 スポンジブラシ



以上の実験を以て、細菌性バイオフィルム除去に応用できる機能性糸の基礎的・臨床的基盤が確立した。この成果は、口腔のみならず全身の医療に応用可能であるばかりでなく、あらゆる生体表面・内面の硬組織・軟組織の清掃法に新たな可能性を与え、介護・保健分野のみならず、食品衛生から産業用途まで様々な応用の可能性を秘めている。本研究の成果を多くの分野で応用することをこれから実施して行こうと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Ryoichi Hosokawa, Katsuhiko Taura, Emi Ito, Takeyoshi Koseki.
Roles of dentists and dental hygienists in two major earthquakes
International dental journal
査読有り
62 巻 6 号、2012 年、315-319 ページ、doi:
10.1111/j.1875-595X.2012.00126.x.

[学会発表] (計 7 件)

1. 伊藤恵美、玉原亨、細川亮一、吉田英子、丹田奈緒子、小島健、小関健由、情報入力を省力化した歯科健診情報管理システムの構築、第 2 回東北口腔衛生学会、2012 年 12 月 8 日、秋田県
2. 鈴木淳、舟橋良子、小関健由、星川知佳子、斎藤純一、富田滋、石黒慶一、在宅歯科医療の現状、第 2 回東北口腔衛生学会、2012 年 12 月 8 日、秋田県
3. 吉田英子、玉原亨、細川亮一、丹田奈緒子、小島健、福井玲子、佐藤由美子、小野ゆかり、伊藤恵美、小関健由、東北大学病院における周術期口腔機能管理、第 2 回東北口腔衛生学会、2012 年 12 月 8 日、秋田県
4. 吉田英子、玉原亨、細川亮一、伊藤恵美、丹田奈緒子、斎藤純一、田浦勝彦、小関健由、全身状態と口腔内因子の刺激唾液流出量との関連について、第 61 回日本口腔衛生学会、2012 年 5 月 25 日、神奈川県
5. 玉原亨、細川亮一、伊藤恵美、吉田英子、丹田奈緒子、小関健由、東北大学病院における病棟患者における口腔ケアの臨床的検討、第 61 回日本口腔衛生学会、2012 年 5 月 25 日、神奈川県

6. 伊藤恵美、人見早苗、市川久美子、南部佳恵、結城泉、舟橋良子、高橋由希子、小関健由、スケーリング操作の手技パターンの比較観察、第 55 回春季日本歯周病学会、2012 年 5 月 17 日、北海道
7. 伊藤恵美、大宮由布子、大場智美、高橋舞、細川亮一、小関健由、機能性糸を用いた綿棒の清掃効果の検証、第 60 回日本口腔衛生学会、2011 年 10 月 9 日、千葉県

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 恵美 (ITO EMI)

東北大学・大学院歯学研究科・技術一般職員

研究者番号：80596817

(2) 研究分担者

小関 健由 (KOSEKI TAKEYOSHI)

東北大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：80291128

田浦 勝彦 (TAURA KATSUHIKO)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：90005083

細川 亮一 (HOSOKAWA RYOICHI)

東北大学・大学院歯学研究科・講師

研究者番号：40547254