

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：32622

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659927

研究課題名(和文) 歯・インプラント体表面から超音波粒子加速度を応用したバイオフィルムの除去

研究課題名(英文) Effect of removal of biofilm on titanium surface applied by action of vibrational acceleration.

研究代表者

滝口 尚 (Takiguchi, Takashi)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：60317576

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、超音波の振動加速度を用いた洗浄法のバイオフィルムの除去効果を検討した。評価サンプルは、チタン試験片を組み込んだステントを72時間口腔内に保持し、試験片上にバイオフィルムを形成させた。評価方法は、試験片の超音波照射前後の状態を、走査型電子顕微鏡(SEM)とデジタルマイクロスコープにて残存プラーク量を観察・評価した。流水式超音波をチタン試験片に180秒作用させると、バイオフィルム残存率は鏡面加工で $19.0\% \pm 32.6$ 、粗面加工で $16.2\% \pm 8.6$ と減少し、各試験片をSEMで観察すると、流水式超音波を作用させた試験片では、球菌、桿菌等からなる細菌塊は除去されたことが確認された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the debriding effect of the action of vibrational acceleration on the plaque biofilm attached to titanium surface. Plaque biofilm were formed on titanium specimens by volunteers who kept the custom made stents intraorally for 72 hours on the buccal surfaces of molar and premolar teeth. The titanium surface was exposed to ultrasonic water flow for 180 seconds. For each titanium specimen, residual plaque biofilm (RPB) areas were evaluated as a percentage of the scanned surface selected at random by digital microscope. Ultrasonic water exposed titanium surfaces were observed by scanning electron microscope (SEM). Mean RPB was 19.0% and 16.2% on the mirror and rough surface respectively. A significant decrease in the RPB when compared to pretreatment on both mirror surface and rough surface  $*p<0.01$ , Tukey-Kramer (n=8). Additionally, the ultrasonic water flow resulted in complete disruption of the bacterial chain.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯周予防学

キーワード：バイオフィルム チタン 加速度

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 歯周炎・インプラント周囲炎について

歯周炎は、歯表面にプラークが慢性的に付着し引き起こされる炎症性組織破壊が原因であり、インプラント周囲炎も、オーバーロードの付加により生じた骨吸収部では、嫌気性の環境へ変化し、インプラント周囲炎の原因にも歯周病原性細菌が関与している(Quirynen et. al)。また、インプラント体は骨への生体親和性向上を目的に、表面の多孔質化などの改良が進んでいるため、ひとたび口腔に露出すれば微生物が微細な表面の孔窩に入り込むことで、菌体除去はますます困難となる。国内外でのインプラント周囲炎の治療法は、口腔内に露出したインプラントフィクスチャーに対し、超音波スケーラー、重炭酸ナトリウムパウダー Air Abrasion, Er:YAG レーザーなどが用いられているが、微細な表面孔窩に付着した歯石やバイオフィルムを完全には除去できず、さらにはインプラント体表面にスケーラーの構成金属元素や研磨成分のシリカの付着、レーザーで蒸散した場合はインプラント表面の改変が観察されている。

### (2) 超音波の作用

超音波には①キャビテーション②加速度③直進流の3つの要素によって洗浄する効果が存在する。過去に我々は、微細な凹凸を有するインプラント表面に入り込んだプラーク細菌の除去に、超音波振動による洗浄効果を応用し、非接触型洗浄器の研究に取り組んできた。in vitro の系では周波数によらず Duty 比が約 50% 付近で除去効果が最も高いことが判明した。このことから、微細構造の中への超音波エネルギーの到達性や操作性等を考え、電子基板の生産工程の洗浄等で用いられている超音波粒子加速度を利用した流水式超音波洗浄の生体への応用を着想した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、歯、インプラント体表面のプラーク除去を目的に、電子工業分野で半導体基板に付着した微細な汚れを除去するため用いられている、超音波粒子加速度を応用した「流水式超音波洗浄装置」の技術を生体へ技術活用し、マイクロなレベルで微生物除去が可能で、薬剤を一切使用しない、洗浄効果の高い、「流水式超音波口腔清掃器」の開発を行うことである。

## 3. 研究の方法

1、流水式超音波照射の音場分布をシミュレーションから判断し、最適な照射距離を測定する。

2、流水式超音波照射による生体組織に対する影響を動物実験で明らかにする。

3、インプラントフィクスチャーとアバットメントに付着したバイオフィルムが流水式超音波照射技術により除去が可能かどうかを光学的観察および電子顕微鏡的観察にて評価する。

## 4. 研究成果

音場分布パターンは周波数 400kHz、振動子サイズ  $\phi$  30mm、音速 1500m/s 条件下でリング関数法にてシミュレーションした。その結果、最大音場は振動子から 50 mm 程度のところに存在し、振動近くの音場は弱いことが観察された (図 1)。

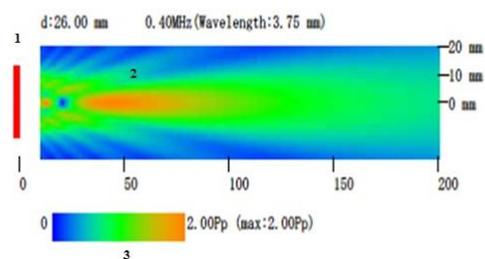
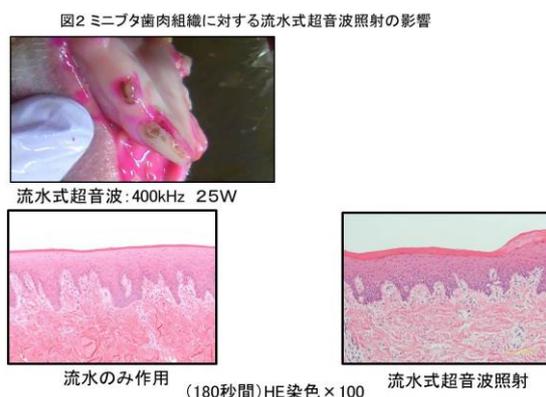


図 1 音場分布シミュレーション  
1. Ultrasonic transducer  
2. Maximum sound pressure of the ultrasonic wave  
3. Level of sound pressure maximum Peak pressure(Pp) is 2.00

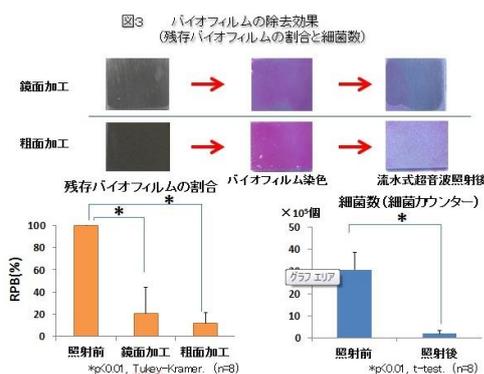
以上の結果から、超音波の照射条件は振動子から 50 mm の所に試験片や被験体を設置し以後の研究を行った。

流水超音波照射による生体為害作用を調べるため、ミニブタ歯肉組織を用いて組織学的観察を行った。ミニブタ辺縁歯肉、付着歯肉部に 25W, 180 秒間作用させ、24 時間後の組織標本を観察すると好中球、単核細胞の浸潤、上皮の壊死、水腫等の急性炎症反応は観察されず、この結果は流水のみを作用させたコントロール群と同様な結果であった (図 2)。



このことから、流水式超音波照射は口腔組織に障害をあたえないため、安全性の高い清掃器具と考えられる。

インプラントのフィクスチャーとアバットメントを想定し、粗面加工および鏡面加工のチタン試験片をヒト口腔内に 72 時間装着しバイオフィルムを付着させ、バイオフィルム染色 (プラーク染色液) 後、流水式超音波照射前後の試験片を光学画像撮影にてプラーク残存率 (Residual Plaque Biofilm: RPB) を評価した。その結果、両試験片とも染色したバイオフィルムが減少していることが観察された。これら RPB を統計解析すると、照射前の RPB を 100%とした場合、鏡面加工で  $19.0\% \pm 32.6$ 、粗面加工で  $16.2\% \pm 8.6$  と有意に減少した。また鏡面加工試験片において、残存細菌数を DEPUM 法で評価すると、有意に細菌数が減少することが確認された (図 3)。



以上のことから、超音波粒子加速度を応用した洗浄技術は、ヒト口腔内バイオフィルムを除去することが確認され、またその技術は既存の清掃方法では難しい部位の清掃を補うことが期待される。

### 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 0 件)

[学会発表] (計 5 件)

①・Takiguchi T (他 5 名)、Effect of titanium surface decontamination using A Newly developed ultrasonic water jet cleaner. 7th Conference of European Federation of Periodontology 2012 年 6 月 7 日 (Vienna)

②・Takiguchi T (他 4 名)、Biofilm removal from titanium surface by ultrasonic applying water jet. 91st General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research 2013 年 3 月 21 日 (Seattle)

③・滝口 尚 (他 8 名)、粒子加速度を利用した流水式超音波歯垢除去器の開発 第 56 回春季歯周病学会 2013 年 5 月 31 日 (東京)

④・滝口 尚 (他 3 名) 流水式超音波におけるインプラント表面の洗浄効果 第 43 回日本口腔インプラント学会 2013 年 9 月 14 日 (福岡)

⑤・Matsuo Yamamoto, Takashi Takiguchi (他 4 名)、Effect of ultrasonic water

flow technology for cleaning oral  
biofilm from titanium surface  
IFUA2014(International Forum on  
Ultrasound Applications) March 26-27  
2014 高雄 (台湾)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

滝口 尚 (TAKIGUCHI TAKASHI)  
昭和大学・歯学部・助教  
研究者番号：60317576

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

山本 松男 (YAMAMOTO MATSUO)  
昭和大学・歯学部・教授  
研究者番号：5032896