

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20532

研究課題名(和文)細菌検査を用いたインプラント周囲炎の治療予後診断法の開発

研究課題名(英文) Development of a prognostic method for the treatment of peri-implantitis using bacterial examination

研究代表者

小柳 達郎 (KOYANAGI, Tatsuro)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・非常勤講師

研究者番号：70632173

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：歯周炎、インプラント周囲炎罹患部位より細菌DNAを抽出し、歯周病原細菌及びインプラント周囲炎への関与が示唆される細菌のプライマーを用いて、病原細菌候補となる細菌種の有無と量的変化を調べたところ、菌量に比べて、機能遺伝子を多く担っている菌がKeystone pathogenとなる可能性が高い可能性が示唆された。また、インプラント周囲炎の方が歯周炎と比較すると多くの細菌と共起関係にある活動性の高い細菌が多いことがわかった。

研究成果の概要(英文)：Bacterial DNA was extracted from periodontitis and peri-implantitis. Then, presence or absence and quantitative change of bacterial species as a pathogenic bacterium candidate were investigated. It is suggested that the possibility that the Keystone pathogen bacteria that have many functional genes compared to the amount of bacteria, and peri-implantitis was found to be more active in bacteria that co-occurrence relationship with many bacteria.

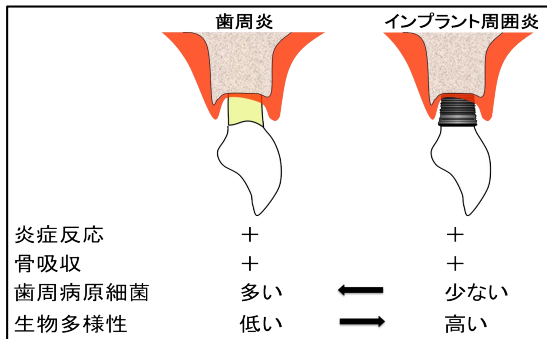
研究分野：Periodontology

キーワード：peri-implantitis

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、歯の喪失による咀嚼機能や審美的回復のために歯科インプラントが頻りに用いられるようになってきた。しかし、これに伴いインプラント治療後のトラブルについての報告も増え続けており、なかでもインプラント周囲炎はその頻度が高い。インプラントは天然歯と異なり、一度炎症が波及すると天然歯以上の速度で周囲歯槽骨の吸収を引き起こし、インプラントを喪失させることがわかっているが、その原因因子は特定されておらず、また、その治療法も確立していない。

(2) インプラント周囲炎の病態を理解し、治療に反映させるためには、発症原因の一つと考えられる細菌叢を正確に理解する必要がある。そこで申請者らはインプラント周囲の細菌叢を網羅的に解析したところ、インプラント周囲炎罹患部位は歯周炎罹患部位と比較して、より複雑で多様な細菌組成を示し、いくつかの細菌種はインプラント周囲炎細菌叢でのみ検出され、歯周病原細菌の検出率は必ずしも高くなかった。



インプラント周囲炎は歯周炎と類似した臨床症状を示すが、その構成細菌や複雑さは異なる。

2. 研究の目的

インプラント周囲では天然歯の場合とは異なる細菌種・細菌群が周囲組織の破壊に関与する可能性があり、本疾患の治療における細菌学的なターゲットは、歯周炎とは異なる可能性があるため、本研究では、インプラント周囲炎治療を通じて、原因となる細菌叢と臨床的パラメーターを記録し、細菌叢の変化治療効果との関連を検討すると共に、インプラント周囲疾患の診断・治療上の指標となる細菌学的因子を解明し、新たな治療プロトコルを開発することを目的とした。

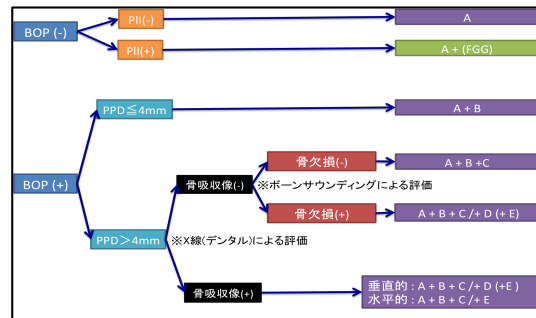
3. 研究の方法

(1) インプラント周囲炎、歯周炎罹患部位よりプラークサンプルの採取、歯周組織検査（歯周及びインプラント周囲ポケットの深さ、歯肉からの出血、X線上での骨吸収度の測定）を行った。その後、採取したプラークサンプルは細菌DNAの抽出を行った。抽出されたDNAのクオリティ評価と濃度調整を行ったのちに、次世代シーケンサーを用いてそ

の塩基配列情報を取得した。塩基配列から不必要な配列情報を除去し、細菌由来の配列と宿主由来のものを区別した。次に細菌由来の塩基配列情報からインプラント周囲炎、歯周炎罹患部位に存在する細菌種の特異とその病原因子、細菌間ネットワークの解析をスーパーコンピューターを経由して行った。

(2) 被験者に対し、実際にインプラント周囲炎の治療を行い治療前後での臨床的改善度と細菌叢の相違を解析、検討を行った。インプラント周囲炎の治療法は以下の図の通りに行った。

インプラント周囲炎治療の流れ

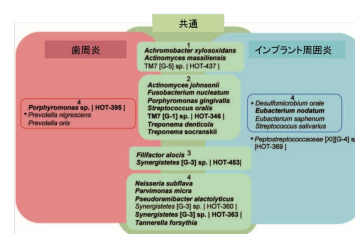


- A: 清掃指導・機械的口腔清掃
- B: 化学療法
- C: 機械的デブリドメント（非外科治療）
- D: 再生療法
- E: 切除療法

4. 研究成果

(1) インプラント周囲炎プラークサンプル、歯周炎プラークサンプルを試験に同意した被験者 24 名の同一口腔内から採取するとともに歯周組織検査（歯周及びインプラント周囲ポケットの深さ、歯肉からの出血、X線上での骨吸収度の測定）を行った。細菌DNA抽出後、次世代シーケンサーを用いてその塩基配列情報を取得した。塩基配列を既存のデータベース化されている病原因子塩基配列と照合することでインプラント周囲炎・歯周炎に存在する病原因子の検索を行なった。検索の結果から、インプラント周囲炎と歯周炎では病原因子となる細菌種が異なる可能性が示唆された。また、その候補となる病原因子を複数種まで特定することに成功している。

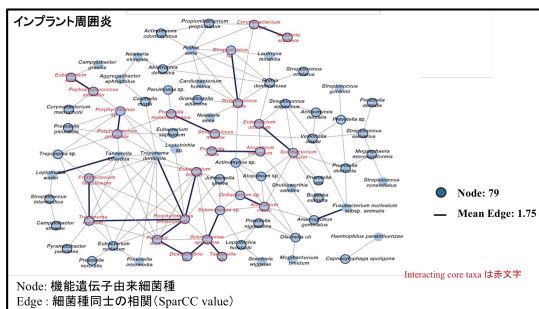
インプラント周囲炎と歯周炎のコア細菌種の同定



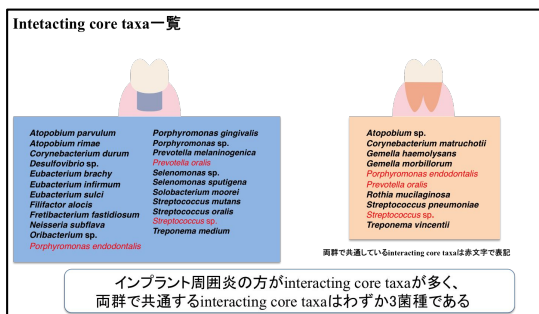
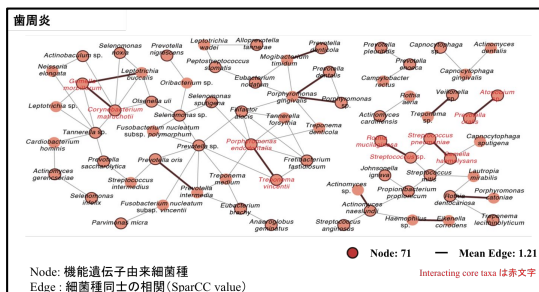
インプラント周囲炎と歯周炎ではコアとなる細菌種が異なる可能性がある

(2) さらにインプラント周囲炎の病原細菌を特定するため、より活動性の高い細菌の検索が可能となるメタトランスクリプトーム法を用いて細菌叢解析を行ったところ、ある特定の細菌種の関与が示唆された。また、細菌間のネットワーク構造を解析したところ、主要なネットワークはインプラント周囲炎では1つだったのに対し、歯周炎では2つに分かれており、インプラント周囲炎のほうがネットワーク構造が複雑であることが示された。また、インプラント周囲炎では Red complex(*P.gingivalis*、*T denticola*、*T forsythia*)である3菌種はわずかな共起関係しか認められなかった。

### インプラント周囲炎細菌ネットワーク構造



### 歯周炎細菌ネットワーク構造



両疾患の病原因子組成が明らかに異なり、これが両疾患の発症や進行に関与していると考えられた。これらの違いは病態や治療に対する反応の違いに影響すると考えられた。

(3) 被験者に対するインプラント周囲炎治療は治療の流れのフローチャートの通り行われた。ほとんどの症例では臨床的改善がはかれてはいるが、各治療時に使用したツール(レーザー、プラスチックキュレット、チタンキュレット、超音波器具など)やマテリア

ル(骨補填材や遮蔽膜など)の違いによる臨床的改善度の相違に関しては、今後検討する必要があると考えられた。

### 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)

Shiba T, Watanabe T, Kachi H, Koyanagi T, Maruyama N, Murase K, Takeuchi Y, Maruyama F, Izumi Y, Nakagawa I. Distinct interacting core taxa in co-occurrence networks enable discrimination of polymicrobial oral diseases with similar symptoms, Scientific reports, 査読有, 2016; 6(8) : 30997.

〔学会発表〕(計1件)

Koyanagi T, The clinical application of the novel diagnosis and treatment flowchart for peri-implantitis complication: Part2- clinical application to moderate case, Europerio9, 2018

〔図書〕(計3件)

小柳達郎、デンタルダイヤモンド社、歯周治療のベーシック&トレンド -インプラント治療とインプラント周囲疾患-、2016、pp.62-67

小柳達郎 他、医学情報社、垂直性骨欠損への対応、2016、pp.76-82

小柳達郎 他、クインテッセンス出版、歯周炎とは原因菌 -インプラント周囲炎の細菌叢とは-、2017、pp.86-98

### 6. 研究組織

#### (1)研究代表者

小柳 達郎 (KOYANAGI, Tatsuro)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・非常勤講師

研究者番号 : 70632173

