

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659934

研究課題名(和文) 通電刺激による歯周炎コントロール

研究課題名(英文) Effects of electrical stimulation on periodontal tissue

研究代表者

森田 学 (Morita, Manabu)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：40157904

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円、(間接経費) 780,000円

研究成果の概要(和文)：歯肉への通電刺激による歯肉炎・歯周炎の改善効果について、微弱電流を発生する歯ブラシを試作して、動物実験および臨床試験で確認した。動物実験の結果、通電刺激により、コラーゲン分解や破骨細胞の分化が抑制されるとともに、破壊された歯周組織の再構築が促進されることが示唆された。臨床研究においては、通電と振動の両方を兼ねた歯ブラシの使用によって、プロービング時出血の改善に効果的であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Electric current is used to promote wound healing in medical field. The present study examined the effect of electric stimulation by the manufactured toothbrush on gingival tissue in both the animal and clinical study. In the animal study, 50uA and 100uA of electrical stimulation exhibited a lower density of collagen in gingival tissue than 0uA of stimulation, indicating the effect of remodeling in periodontal lesions. The clinical study showed that electrical stimulation combined with mechanical vibration effectively induced the % of sited with bleeding on probing

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：通電刺激 歯周炎

1. 研究開始当初の背景

通電療法は、麻酔科、整形外科、眼科、精神神経科領域を中心に、臨床で汎用されている。歯科臨床では、歯科麻酔科領域における神経麻痺治療がある。しかし、一般の歯科治療（う蝕治療、歯周病治療）への応用は皆無に等しく、さらに疾病予防をターゲットとした試みも無い。

これまでの経緯として、応募者らは、歯肉を機械的に刺激することで、歯肉細胞の炎症に対する抵抗性が高まることを、動物実験を通して明らかにしてきた（J Clinl Periodontol, 2002; J Periodontol, 2002）。しかし、この場合の効果は、刺激が直接加わった部分にのみ認められた。すなわち、狭い口腔とはいえ、歯肉を隅から隅まで刺激することが必須なのである（J Periodontol, 2003）。しかし、日常行われているブラッシングでも明らかのように、器具の先端を歯肉にまんべんなく到達させるのは現実的には不可能である。そこで、微弱電流であるならば、刺激がある程度の面積として広がり、器具が直接接している部位の周囲（言い換えるならば「接していない部位」）にも効果が波及するのではという着想に至った。

2. 研究の目的

本申請課題では、通電療法が歯周病の予防に応用できる可能性を検討することを目的とした。具体的には、実験的歯周炎を誘発するラットモデルを使って、歯肉に対する通電刺激が歯周炎の発症に及ぼす効果を免疫組織学的に検討した。

また、動物実験でポジティブな結果が得られた場合、それをヒトに応用し、その臨床的な効果を調べることも目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物実験

Wistar 系雄性ラット 24 匹を、対照群（何も処置しない群）、0 μ A 通電刺激群、50 μ A 通電刺激群、100 μ A 通電刺激群に割り付けた。なお対照群を除く 3 群は、まず実験的歯周炎を惹起させた後、それぞれの条件で 2 週間通電刺激を加えた。実験に使用した器具は図 1 に示すとおりである。

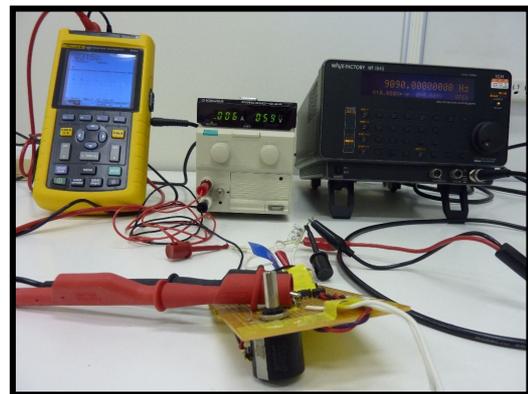


図 1 実験に使用した装置

実験期間終了後、歯肉のコラーゲン分解酵素である MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, およびその阻害因子である TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 の遺伝子発現量を測定した。また、骨代謝関連因子の評価として RANKL と Osteoprotegerin の発現を評価した。さらに、歯根膜における増殖因子である FGF-2 の発現を評価した。組織標本を作製し、セメント・エナメル境から歯槽骨頂までの距離、接合上皮直下結合組織におけるコラーゲン線維の割合、多形核白血球数を求めた。

(2) 臨床試験

歯肉炎を有する学生 30 名を対象に 10 名ずつ、通電 + 振動群、通電群、および対照群の 3 群に無作為に割り付けた。対象者には、通電 + 振動歯ブラシ（通電 + 振動群）、通電歯ブラシ（通電群）、もしくは通電および振動

機能のない歯ブラシ（対照群）を無償で手渡し、1日1回の割合（就寝前）で口腔全体を120秒間刺激するように指示した。また、すべての群を対象に、市販の歯ブラシと歯磨剤を指定し（無償で提供）、14日間はそれらを普段どおりの歯磨き方法で使うように指導した。そして、0（ベースライン時）・7・14日目に歯垢付着指数（PI）、ポケットプロービングデプス（PPD）およびクリニカルアタッチメントレベル（CAL）を記録した。また、1歯6点法でプロービング時出血（BOP）の有無を確認した。以下の検査を行った。なお、検査は割り付けの結果を知らない別の歯科医師が担当した。

なお、本研究は岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 倫理委員会の承認を得た。

4. 研究成果

(1) 動物実験

0 μA 群（歯周炎 + 0 μA の通電刺激）は対照群と比べて多形核白血球数が多く、コラーゲン密度が低かった。50 μA（歯周炎 + 50 μA の通電刺激）群と 100 μA 群（歯周炎 + 100 μA の通電刺激）は、0 μA 群と比較して、多形核白血球数（PMN leukocytes）が少なく、コラーゲン密度が高かった（表1）。また、この2群とも、0 μA 群と比べて歯根膜における FGF-2 の発現量が高かった。

表1 組織学的検査結果の比較

	PMN leukocytes (個/単位面積)	コラーゲン 密度 (%)
対照群	1.1 ± 0.6	71.0 ± 6.2
0 μA 群	5.1 ± 0.8 ^a	52.9 ± 6.5 ^a
50 μA 群	2.2 ± 0.9 ^b	62.2 ± 1.9 ^b
100 μA 群	1.9 ± 0.5 ^b	65.1 ± 4.4 ^b

a: 対照群と有意差あり

b: 0 μA 群と有意差あり

0 μA 群の歯肉組織における MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-2 および TIMP-3 の遺伝子発現は、対照群と比べて2倍以上高い値を示した。50 μA 群と 100 μA 群の MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-2 および TIMP-3 の遺伝子発現は、いずれも 0 μA 群と比べて半分以下であった（表2）。

表2 対照群と比較したコラーゲン分解酵素とその阻害因子の遺伝子発現量（比）

	刺激の強さ		
	0 μA	50 μA	100 μA
MMP3	8.0	0.4	1.0
MMP8	7.7	2.3	2.3
MMP9	7.0	2.2	3.3
TIMP-1	1.9	1.3	1.5
TIMP-2	4.3	0.8	1.4
TIMP-3	2.4	0.4	1.1

歯槽骨表面において、0 μA 群の RANKL 陽性細胞数は、対照群よりも多かった。50 μA 群と 100 μA 群における RANKL 陽性細胞数は、0 μA 群と比べて少なかった。一方、歯槽骨表面上の Osteoprotegerin 陽性細胞は、群間で有意差はなかったものの、電流の大きさに伴い増加する傾向を示した。

結果には示していないが、エナメルセメント境から歯槽骨頂までの距離、いわゆる歯槽骨の吸収の程度についても 100 μA 群は 0 μA 群よりも有意に小さかった。骨芽細胞について検討していないのであくまでも想像の域を出ないが、通電刺激によって歯槽骨の再生が期待できるかもしれない。ただし健常な歯周組織と比較するとはるかに大きい。刺激の時間、条件の工夫が今後必要であると思われる。

以上のことから、通電刺激により、コラーゲン分解や破骨細胞の分化が抑制されると

ともに、破壊された歯周組織の再構築が促進されることが示唆された。

(2) 臨床試験

実験期間中、体調不良などの理由により、3名の学生が実験に参加することができなくなった。その結果、最終的な実験対象者は通電+振動群9名、通電群10名、対照群8名となった。ベースライン時の各群の特性についてみると、男性の割合、年齢、現在歯数、PPD、CAL、BOP陽性率、およびPIについて、3群間で統計学的に有意な差はなかった。また、未処置歯数、修復歯数、および修復物の分類についても、3群間で大きな違いはなかった。

PPDとCALは、通電+振動群、通電群、および対照群のいずれも2週間後にはベースライン時よりも小さな値を示したが、有意差はなかった。一方、2週間後におけるベースライン時からの値の変化の大きさ(2週間後変化量)は、PPDとCALのいずれの指標も、通電+振動群、通電群、対照群の順に大きくなった。

BOP陽性率についてみると、通電+振動群において、2週間後の値はベースライン時よりも有意に小さくなった(表3、図2)。通電群と対照群も、2週間後における値はベースライン時よりも小さかったが、その違いは有意ではなかった。また、通電+振動群の2週間後変化量は他の2群よりも大きな値を示した。

表3 BOP陽性率(%)の変化

	A	B	C
ベースライン	24.7	31.9	18.3
	±	±	±
	18.5	18.3	12.4
1週間後	13.0	26.3	11.0
	±	±	±
	11.3 ^a	21.0	9.5
2週間後	9.3	23.7	10.5
	±	±	±
	7.1 ^a	16.6	8.3
2週間後変化量	-15.4	-8.2	-7.8
	±	±	±
	12.4	22.8	6.4

A 通電+振動群 (N=9)

B 通電群 (N=10)

C 対照群 (N=8)

a: $p < 0.05$, 各群においてウィルコクソン符号付順位和検定を用いてベースラインと1週間後、ベースラインと2週間後を比較し、Bonferroniの手法により危険率を $5/2 = 2.5\%$ に補正した後、ベースラインと有意に差を認める時点でaと記載した。

PIは、通電+振動群、通電群、および対照群のいずれも、有意ではないものの、2週間後にはベースライン時よりも小さな値となった。そして、2週間後変化量は、通電+振動群と対照群の値が通電群よりも大きかった(表4)。

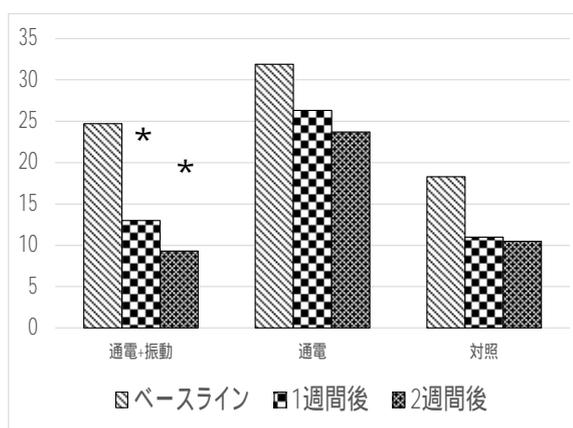


図2 BOP陽性率の平均値

*: ベースラインより有意に減少

表4 歯垢指数 (PI) の変化

	A	B	C
ベースライン	0.52 ± 0.52	0.57 ± 0.38	0.38 ± 0.28
1週間後	0.25 ± 0.22	0.56 ± 0.36	0.28 ± 0.19
2週間後	0.25 ± 0.23	0.47 ± 0.37	0.17 ± 0.11
2週間後 変化量	-0.27 ± 0.45	-0.10 ± 0.22	-0.21 ± 0.26

A 通電 + 振動群 (N = 9)

B 通電群 (N = 10)

C 対照群 (N = 8)

ベースライン時の特性は、通電 + 振動群、通電群、および対照群の間で大きな違いはなかった。しかし、ベースライン時と2週間後との比較では、通電 + 振動群においてのみ、BOP 陽性率の有意な減少が認められた。さらに、通電 + 振動群の PPD, CAL, BOP 陽性率に関する2週間後変化量は、他の2群よりも大きかった。以上のことから、通電 + 振動群は他の2群よりも歯肉炎を改善させる効果が高いと考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Irie K, Endo Y, Kasuyama K, Nagayama M, Morita M: Electric stimulation promotes periodontal tissues remodeling in rats. J Periodont Res (査読有り), 48: 177-183, 2013

DOI: 10.1111/j.1600-0765.2012.01518.x

6 . 研究組織

(1)研究代表者

森田 学 (MANABU MORITA)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号 : 40157904

(2)研究分担者

友藤 孝明 (TOMOFUJI TAKAAKI)

岡山大学・岡山大学病院・講師

研究者番号 : 80335629

江國 大輔 (EKUNI DAISUKE)

岡山大学・岡山大学病院・講師

研究者番号 : 70346443