

原 著

インプラント周囲溝滲出液の DNA チップによる細菌叢解析

林 保 利¹⁾ 永 原 國 央¹⁾ 山 田 尚 子¹⁾ 田 邊 俊 一 郎¹⁾
近 藤 雄 三¹⁾ 長 谷 川 ユ カ¹⁾ 中 本 哲 自¹⁾
引 頭 毅²⁾ 友 藤 孝 明³⁾

Bacterial flora analysis by DNA chip of peri-implant sulcus fluid

HAYASHI YASUTOSHI¹⁾, NAGAHARA KUNITERU¹⁾, YAMADA NAOKO¹⁾, TANABE TOSHI-ICHIRO¹⁾,
KONDO YUZO¹⁾, HASEGAWA YUKA¹⁾, NAKAMOTO TETSUJI¹⁾,
INTOU TAKESHI²⁾, TOMOFUJI TAKAAKI³⁾

目的：本研究では、インプラント周囲溝滲出液（PISF）を検体とし、DNA チップを用い 28 種の歯周病原細菌（PPB）と総菌数を定量的に検出し、その結果報告におけるパターン分類と年齢、性別、全身疾患の有無およびインプラント治療の臨床的経過との関連性を統計学的に評価した。材料および方法：対象は、当医科歯科医療センター口腔インプラント科においてインプラント治療を受けた 37 名（男性：23 名、女性：14 名）とした。PISF の細菌叢検査の検査報告では、パターン 1（P1）：臨床所見的に健康から軽度歯周炎、パターン 2（P2）：中等度歯周炎、パターン 3（P3）：重度歯周炎と分類されている。本研究では、P1（健康あるいはそれに近い状態）と P2・3（病的な状態）との比較において、統計学的分析を行った。結果：P2・3 が有意に多かった評価項目は、(1) 全身的疾患を持っている、(2) 大臼歯部、(3) セメント固定、(4) 骨造成「有り」、(5) インプラント周囲溝深さ、(6) プロービング時の出血であった。結論：本研究結果から、P2・3 は、インプラント周囲炎のリスクファクターとされている項目において、増大することが認められた。今後、それぞれの症例において増大する細菌種を検討し、詳細なインプラント周囲炎発症の危険性を解明していきたい。

キーワード：インプラント周囲炎、細菌学的因子、インプラント周囲溝浸出液、細菌叢 DNA 検査

Purpose: In this study, we investigated the relationship between the pattern classification which is reported by the DNA chip quantitative detection of 28 species of periodontal pathogenic bacteria (PPB) using the peri-implant sulcus fluid (PISF) as a sample and the clinical course of implant treatment. Materials and Methods: The subjects were 37 patients (male: 23, female: 14) who had oral implant treatment at our department. The PISF microbiota tests were reported the classification which were pattern 1 (P1): clinically healthy to mild periodontitis, pattern 2 (P2): moderate periodontitis, pattern 3 (P3): severe periodontitis. In this study, a statistical analysis was performed in comparison between P1 (healthy or similar situation) and P2.3 (pathological condition). Results: In the statistical analysis of the bacterial flora test results of PISF and the clinical findings in each case, the evaluation items for which P2.3 was significantly higher were, in the case with the systemic diseases, molars, cement fixation for superstructures, at bone augmentation site, pocket depth, presence of bleeding of probing. Conclusion: From the results of this study, it was confirmed that P2.3

¹⁾ 朝日大学歯学部口腔病態医療学講座インプラント学分野
〒 501-0296 瑞穂市穂積 1851

²⁾ 朝日大学歯学部口腔感染医療学講座口腔微生物学分野
〒 501-0296 瑞穂市穂積 1851

³⁾ 朝日大学歯学部口腔感染医療学講座社会口腔保健学分野
〒 501-0296 瑞穂市穂積 1851

¹⁾ Department of Implantology, Division of Oral Pathogenesis and
Disease Control, Asahi University School of Dentistry.
1851 Hozumi, Mizuho, Gifu 501-0296, Japan

²⁾ Department of Oral Microbiology, Division of Oral Infections and
Health Sciences, Asahi University School of Dentistry
1851 Hozumi, Mizuho, Gifu 501-0296, Japan

³⁾ Department of Social Oral Health and Science, Division of Oral
Infections and Health Sciences, Asahi University School of
Dentistry.

1851 Hozumi, Mizuho, Gifu 501-0296, Japan
(2020 年 9 月 24 日受理)

was increased in items that are considered to be risk factors for peri-implantitis. In the future, we would like to investigate the increasing bacterial species in each case and clarify the detailed risk of peri-implantitis.

Key words : peri-implantitis, bacteriological factor, peri-implant sulcus fluid, bacterial flora DNA test

緒 言

口腔インプラント治療は、オッセオインテグレーションシステムの登場以来、その治療の予知性の向上により、欠損補綴治療の一選択肢として、一般的歯科医療に取り入れられている¹⁻⁴⁾。

口腔インプラント治療では診査・診断から治療計画の立案、確実な治療の実施、長期に渡るメンテナンスが重要である。そのメンテナンスを行うにあたり、全身的疾患、特に成人病の罹患に伴うインプラント義歯の早期脱落等の説明、口腔内での咬合状態と清掃の指導とそのチェックが重要である^{5, 6)}。しかし、平均的予後において10年後に4~9%のインプラント体が脱落するとされており、その大きな原因がインプラント周囲炎であることが報告されている^{6, 7)}。一方で、臨床的に長期経過においてインプラント周囲炎の発生率は56%と報告されており、その予防、治療に関する報告がある⁷⁻⁹⁾。

インプラント周囲炎は、学術的にインプラント周囲病変の1病態であり、粘膜のみに限局するインプラント周囲粘膜炎とインプラント周囲の骨の破壊まで進行しているインプラント周囲炎とに分類され、その主たる原因は細菌学的因子と過剰な咬合負担に起因する感染であることが報告されており、糖尿病を始めとする成人病による創傷の治癒不全、骨粗鬆症での骨密度の減少に伴う骨のリモデリング低下など、全身的疾患がその進行に大きな影響を与えることも報告されている^{10, 11)}。

その様なインプラント周囲病変の原因としてあげられている細菌学的因子の関与に関する報告は散見され、歯肉炎、歯周炎と同様であるとするものと¹²⁻¹⁷⁾、より複雑なものであるとする報告¹⁸⁻²¹⁾があり、その詳細は明確にされていない。

本研究では、インプラント周囲溝滲出液を検体として、DNAチップを用いた28種の歯周病原菌叢^{22, 23)}の解析結果と歯周炎の臨床所見との関連性を評価したパターン分類を応用し、年齢、性別、全身疾患の有無、残存歯数等といったインプラント治療の臨床的経過との関連性を評価することで、インプラント周囲炎の原因としての細菌学的因子の詳細を解明にすることを目的として臨床研究を行った。

対象および方法

1. 対象

朝日大学医科歯科医療センター口腔インプラント科において口腔インプラント治療を受けた患者を無作為に抽出し、実験趣旨を説明し同意の得られた37名（男性：23名、女性：14名）を対象とした。

本研究は朝日大学歯学部倫理審査委員会の承認（承認番号：29013）を得て実施した。

2. 一般的評価項目

被検者の年齢、性別、全身疾患の有無、残存歯数、口腔内に存在するインプラント体の本数を評価項目とした。

3. 検体採取部位での評価項目

インプラント周囲溝滲出液採取部位において、上下顎別、小白歯部・大白歯部、インプラント体の長さ、骨造成処置の有無、インプラント周囲溝の深さ（IPD）、プロービング時の出血（IBOP）、骨吸収量を評価項目とした。

骨吸収量の計測は、上部構造装着時とインプラント周囲溝滲出液採取時のインプラント体周囲の骨の状態を、パノラマエックス線で計測し算出した。

4. インプラント周囲溝滲出液の採取

インプラント周囲溝滲出液は、診療室のチェアサイドで簡易防水を行い（図1）、#30滅菌ペーパーポイントをインプラント周囲溝挿入し10秒間静置し採取した。同様の手技にて滲出液を採取した2本のペーパーポイントを、キット内の検体輸送容器に無菌的入れ（図2）密封し、さらにビニール袋に入れチャック



図1 簡易防水を行い、インプラント周囲溝滲出液を採取している状況。



図2 インプラント周囲溝浸出液を採取したペーパーポイントを検体輸送容器に入れている状況。

を確実に閉め、必要事項を記入後検体送付用封筒にて郵送した。

5. 口腔細菌叢 DNA 検査

インプラント周囲溝内浸出液の28菌種と総菌数のDNAチップを用いた定量的検出には、口腔細菌叢DNA検査(歯周病原細菌叢検査キット,GC社,東京)を用いた。

DNAチップによる口腔内細菌叢の検査結果は、2002年にSocranskyら²³⁾により報告されたDental biofilms: difficult therapeutic targetsの論文中に示されていたカラーコード分類により報告される。

このカラーコード分類は、歯面に形成されたバイオフィルムに対して初期に付着してくる細菌から、blue complex (*Actinomyces species*), purple complex (*Actinomyces odontolyticus*, *Veillonella parvula*), yellow complex (*Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mitis*), green complex (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter concisus*, *Capnocytophaga gingivalis*,

Capnocytophaga ochracea, *Capnocytophaga sputigena*, *Eikenella corrodens*)とされており、その後付着してきて初期のプラーク形成のないところには認められない細菌叢をorange complex (*Centruroides gracilis*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter showae*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium nucleatum polymorphum*, *Fusobacterium nucleatum Vincentii*, *Fusobacterium periodonticum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus constellatus*)とred complex (*Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*)に分類している。また、Socranskyら²³⁾の論文で紹介されているカラーコードピラミッドでは、初期のプラーク形成の上にorange complex, red complexといった細菌叢が形成されプラークが成長してくる状況を示している(図3)。

6. 統計解析

各データの統計学的分析には、マン・ホイットニーのU検定、ブルンナー＝ムンツェル検定およびカイ二乗検定(Kareida Graph version 4.1.1, Hulinks Inc., 東京)を用い、P値を0.05未満にて有意差検定を行った。

7. 統計学的分析

今回の細菌叢DNA検査は、28種の細菌叢の菌数と総菌数に対する割合(総菌比)で報告される。各細菌叢の総菌比をレーダーチャート化し、パターン1, 2, 3に分類されて報告される(図4-1, 2, 3)。

このパターン分類でのパターン1は、水色ゾーンの細菌叢が多く、臨床所見から健康から軽度歯周炎に分類される部位に多く見られるパターン。パターン2は、

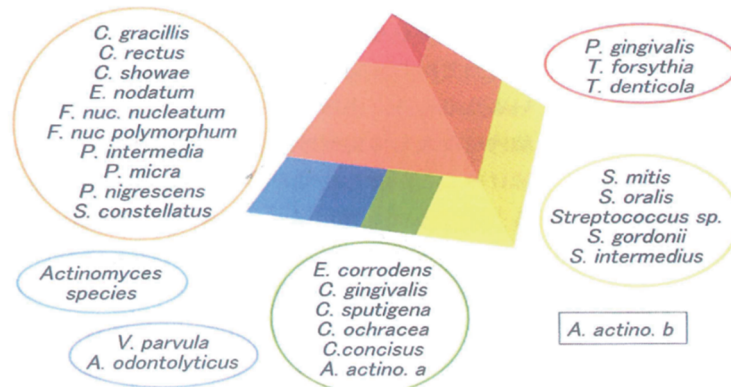


図3 天然歯プラークの細菌叢のカラーコードピラミッド^{23, 24)}。

図 4-1

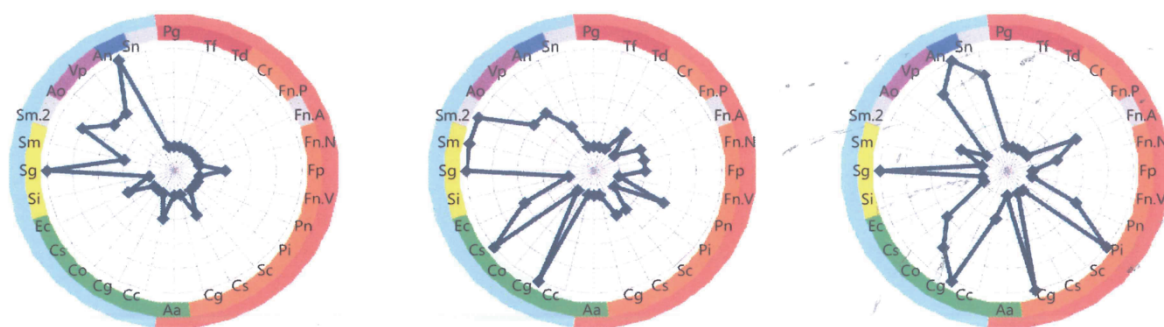


図 4-2

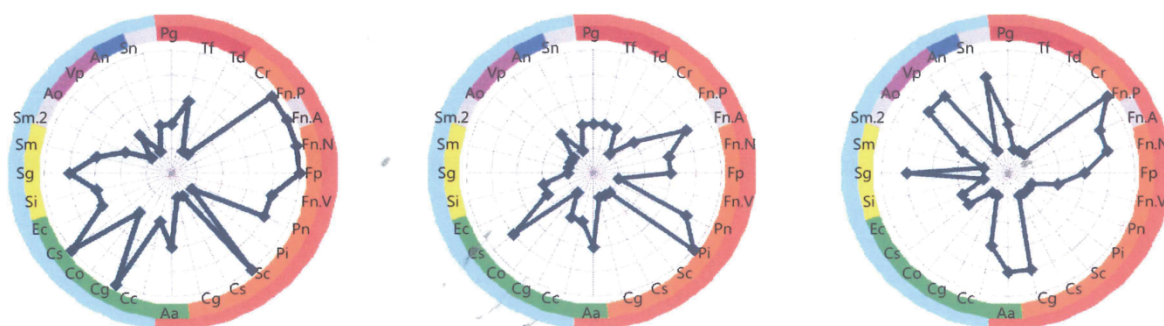


図 4-3

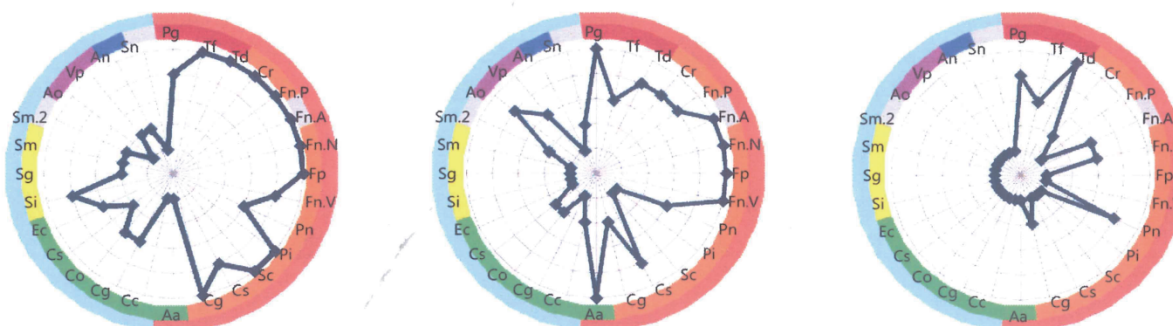


図 4 DNA チップによる歯周病原菌解析結果でのパターン分類。

図 4-1 パターン 1

図 4-2 パターン 2

図 4-3 パターン 3

Sn: *Selenomonas noxia*, An: *Actinomyces naeshlundii*, Vp: *Veillonella parvula*, Ao: *Actinomyces odontolyticus*, Sm.2: *Streptococcus mitis*, bv. 2, Sm: *Streptococcus mitis*, Sg: *Streptococcus gordonii*, Si: *Streptococcus intermedius*, Ec: *Eikenella corrodens*, Cs: *Campylobacter suputigena*, Co: *Campylobacter ochracea*, Cg: *Campylobacter gingivalis*, Cc: *Campylobacter concisus*, Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, Cg: *Campylobacter gracilis*, Cs: *Campylobacter showae*, Sc: *Streptococcus constellatus*, Pi: *Prevotella intermedia*, Pn: *Prevotella nigrescens*, Fn.V: *Fusobacterium nucleatum* subsp. *vincentii*, Fp: *Fusobacterium periodontium*, Fn.N: *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum*, Fn.A: *Fusobacterium nucleatum* subsp. *animalis*, Fn.P: *Fusobacterium nucleatum* subsp. *polymorphum*, Cr: *Campylobacter rectus*, Td: *Treponema denticola*, Tf: *Treponema forsythia*, Pg: *Porphyromonas gingivalis*.

red complex 以外の細菌が多く見られ、臨床所見から中等度の歯周炎に分類される部位に多く見られるパターン。パターン3は、水色ゾーンの細菌叢はあまり見られず、red complexの細菌叢が多く見られ、臨床所見から重度歯周炎に分類される部位に多く見られるパターンとしている。

本研究においては、インプラント周囲溝の滲出液の細菌叢解析であるから、パターン1とパターン2・3との比較、すなわち、健康あるいはそれに近い状態と病的な状態との比較を統計学的に分析した。

結 果

1. 性別におけるパターンの違い

女性では男性よりもパターン2・3が有意に多いことが認められた(図5)。

2. パターンの違いによる年齢

パターン1の方がパターン2・3よりも年齢が低いが有意差は認められなかった(図6)。

3. 全身疾患の有無によるパターンの違い

インプラント治療症例は、術前の検査で全身疾患の有無を精査し、治療を開始するようになっているので、

多くの症例が、全身疾患なしという結果である。しかし、症例によっては、高血圧、糖尿病など術前において全身疾患を認めた症例においても、患者様に対してインプラント治療に対するリスクを十分に説明し、同意が得られた場合には治療を行っている。今回の対象での全身疾患の有無とその内容、そして、パターンを表1に示す。

また、図7には、表1をグラフにしたものを示す。全身疾患「あり」では、パターン2・3が有意に多いことが認められた。

4. パターンの違いによる上部構造装着後の経過月数

パターン別の上部構造装着後の経過時間(月数)を検討した結果、各パターン間での有意差は認められなかった(図8)。

5. パターンの違いによる残存歯数

パターン別の残存歯数を検討した結果、各パターン間での有意差は認められなかった(図9)。

6. パターンの違いによる埋入されているインプラント体本数

パターン別の同一口腔内に埋入されているインプラ

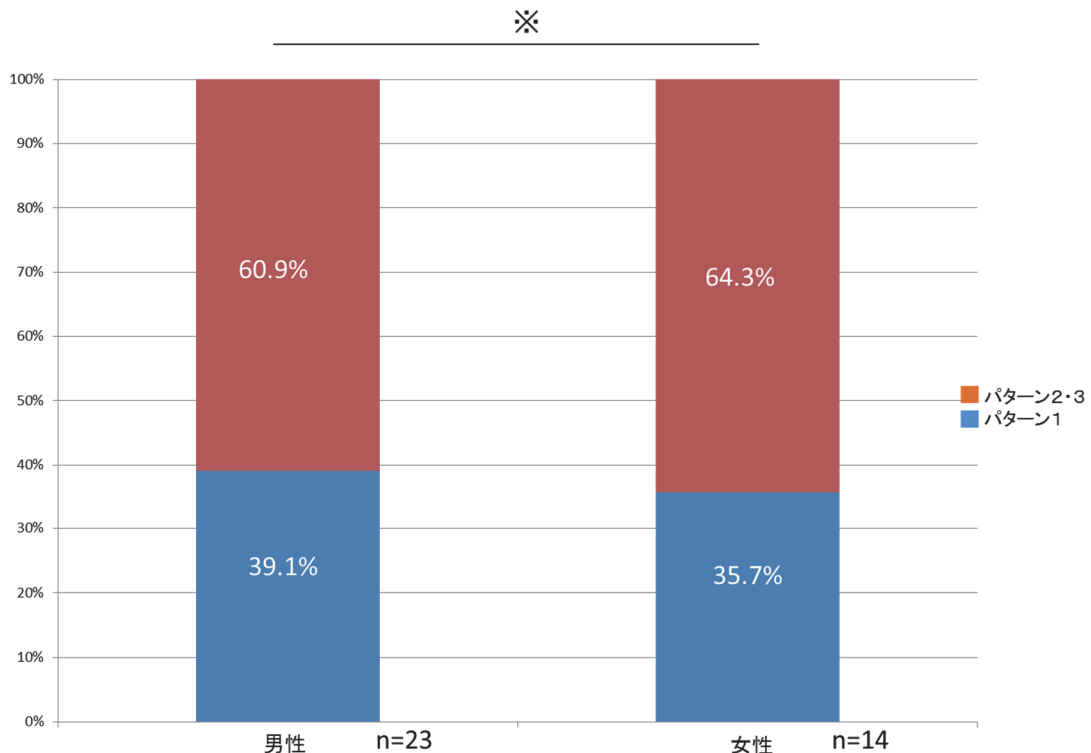


図5 性別によるパターンの違い。
※有意差があることを示す (p<0.05)。

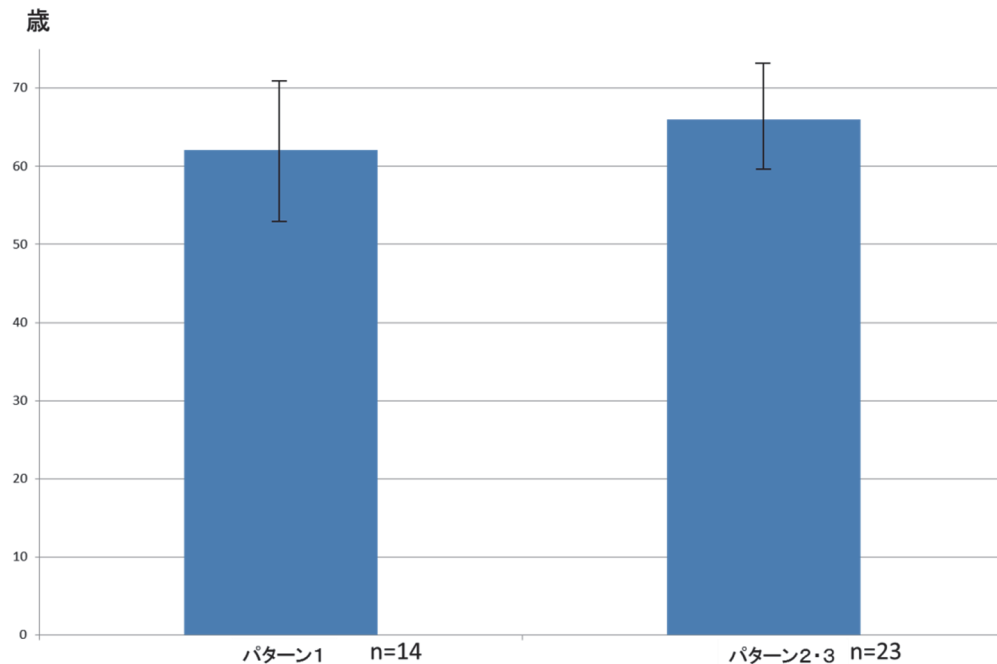


図6 パターンの違いによる年齢

疾患・他	症例数	パターン	
		1	2・3
高血圧	4	1 (40%)	3 (60%)
糖尿病	1	0	1 (100%)
糖尿病+高血圧	1	0	1 (100%)
その他	6	2 (33.3%)	4 (66.7%)
喫煙	1	0	1 (100%)
なし	24	11 (45.8%)	13 (54.2%)

表1 対象症例の全身疾患の有無とその内容。括弧内はパターン別割合を示す。

ント体本数を検討した結果、各パターン間での有意差は認められなかった（図10）。

7. 上下顎別のパターンの違い

インプラント周囲溝滲出液の採取部位が上下顎別のパターンの違いを検討した結果、上顎において有意差にパターン2・3が多くなっていた（図11）。

8. 小白歯部・大白歯部でのパターンの違い

インプラント周囲溝滲出液の採取部位が小白歯部な

のか大白歯部なのかの違いによるパターンを検討した結果、大白歯部において有意差にパターン2・3が多かった（図12）。

9. パターンの違いによるインプラント体の長さ

インプラント周囲溝滲出液の採取部位のインプラント体の長さを上下顎別に検討した結果、各パターン間および上下顎別の有意差は認められなかった（図13）。

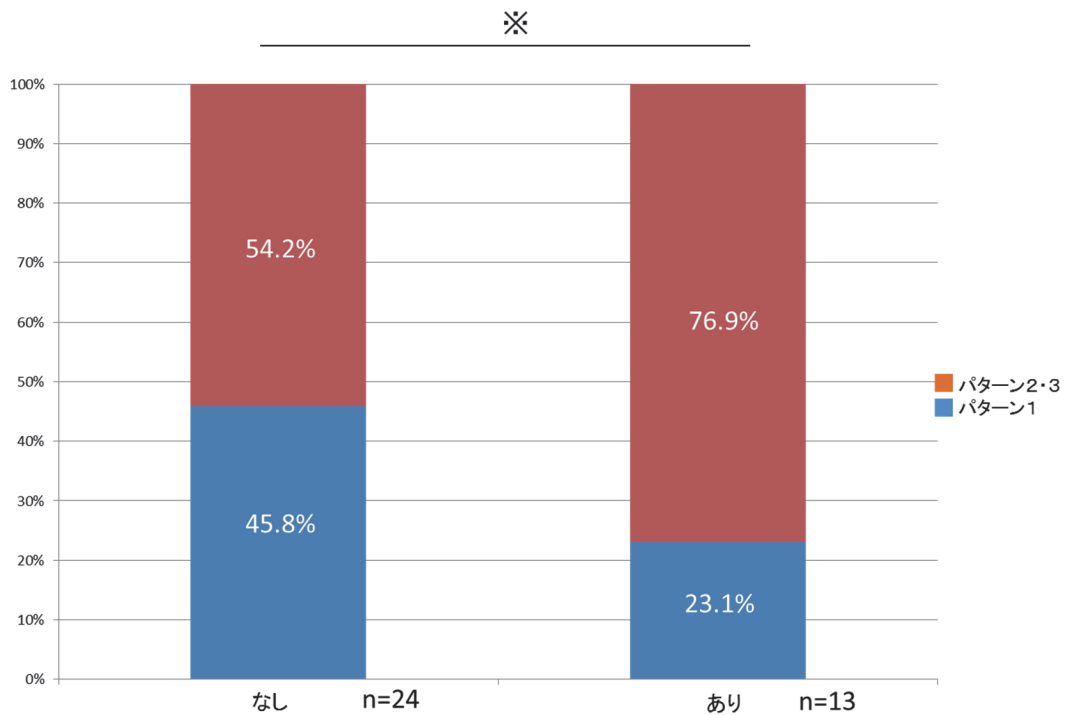


図7 全身疾患の有無によるパターンの違い。
※有意差があることを示す (p<0.05).

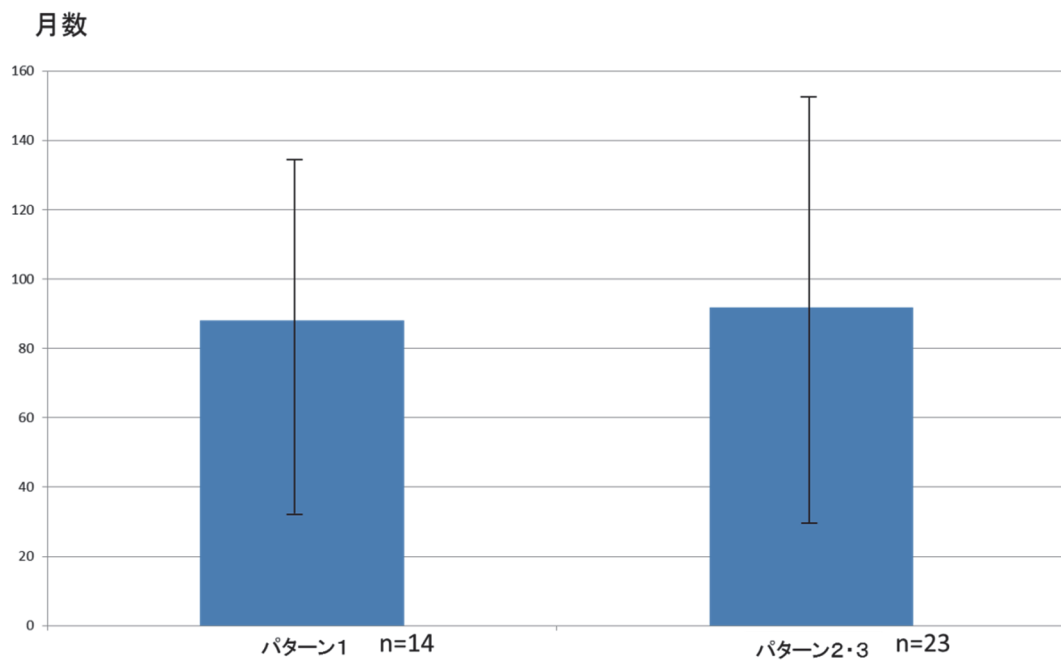


図8 パターン別の上部構造装着後の経過月数.

10. 上部構造の違いでのパターンの違い

インプラント周囲溝浸出液の採取部位の上部構造が固定式でセメント固定なのかスクリュー固定式なのか

の検討と可撤式（オーバーデンチャー：OD）なのを検討した結果，スクリュー固定とセメント固定の比較では，セメント固定において有意にパターン2・3が

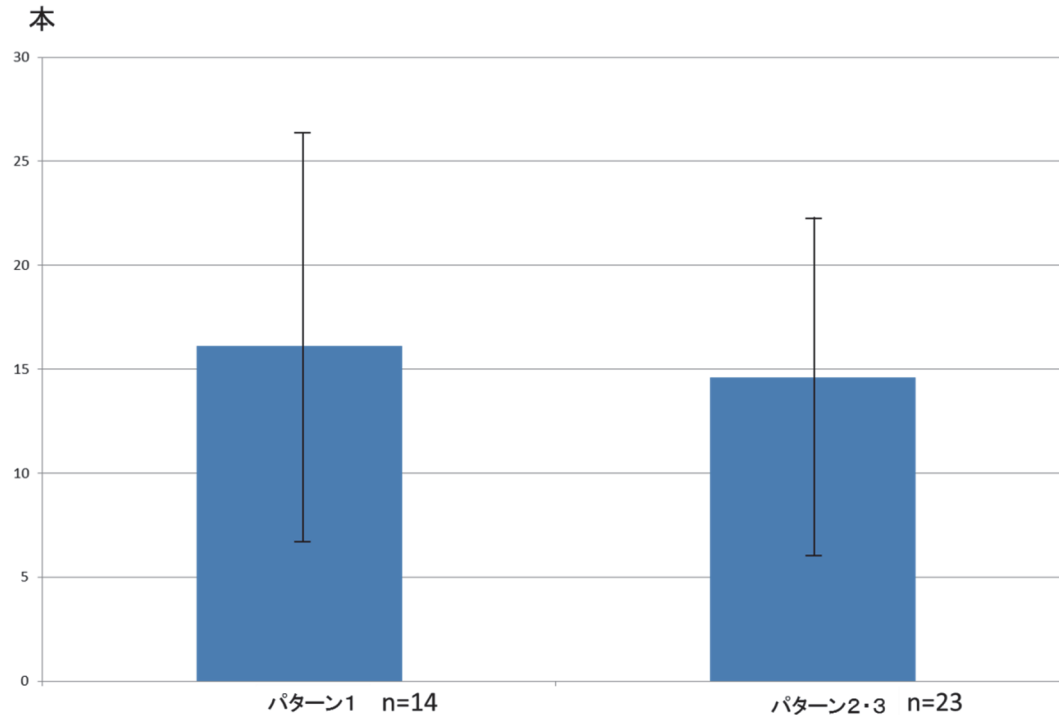


図9 パターン別の残存歯数.

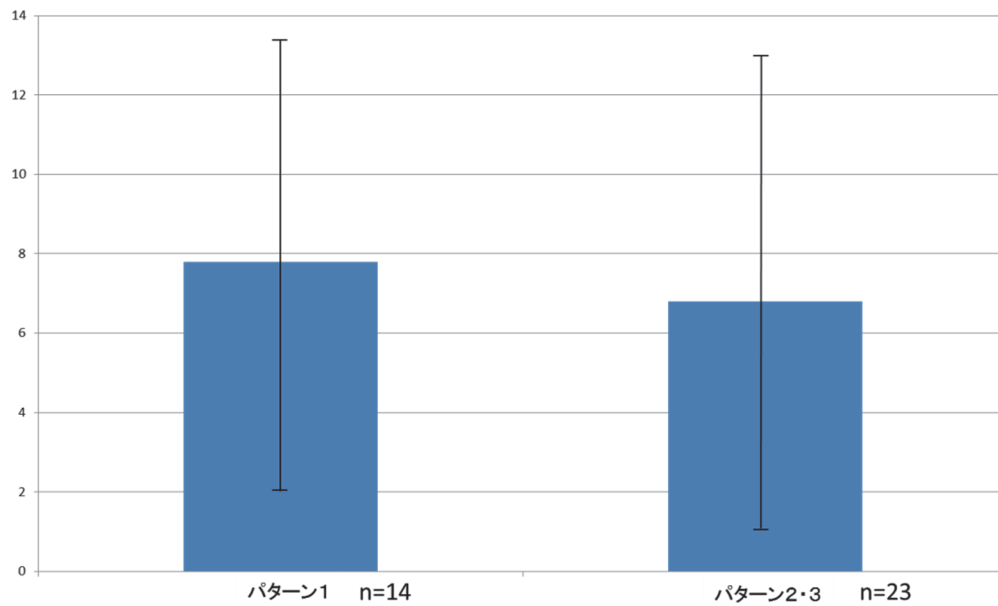


図10 パターン別での同一口腔内に埋入されているインプラント体の本数.

多くなっており、固定式上部構造（スクリー固定＋セメント固定）と可撤式上部構造との比較において、可撤式上部構造において有意にパターン2・3が増加していた（図14）。

11. 骨造成術の有無によるパターンの違い

インプラント周囲溝滲出液の採取部位において骨造成処置を行ったものとそうでないものとの比較検討した結果、骨造成処置を行った部位において有意にパターン2・3の割合が多くなっていた（図15）。骨造

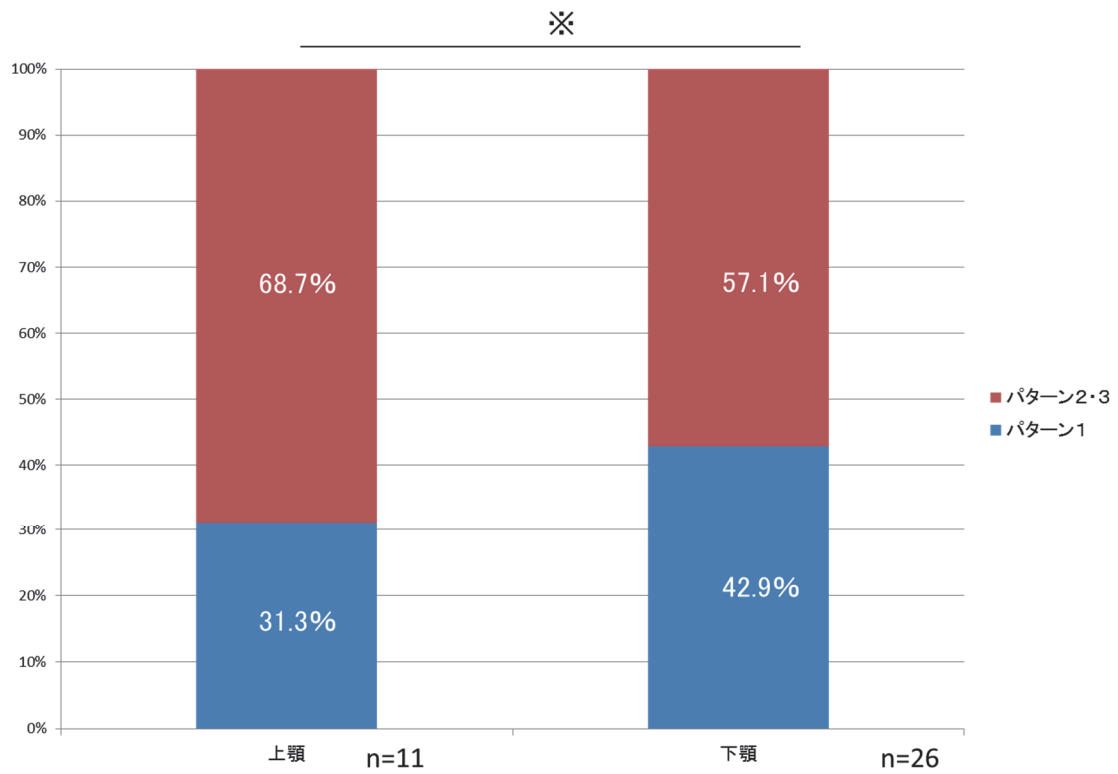


図 11 上下顎別でのパターンに違い、
※有意差があることを示す (p<0.05).

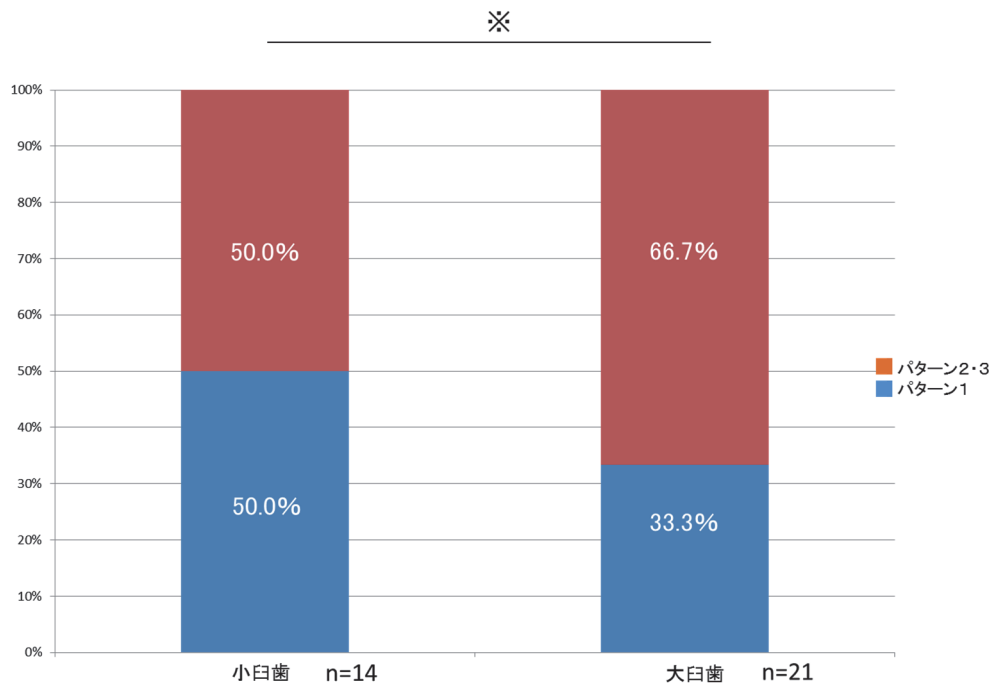


図 12 小白歯・大白歯部でのパターンに違い、
※有意差があることを示す (p<0.05).

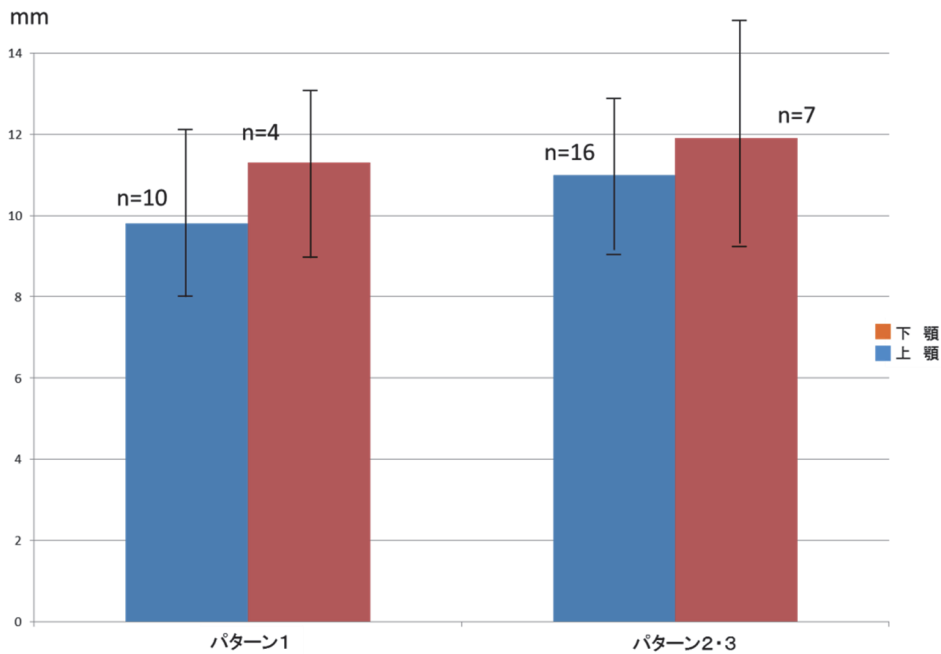


図 13 パターンおよび上下顎別でのインプラント体の長さ。

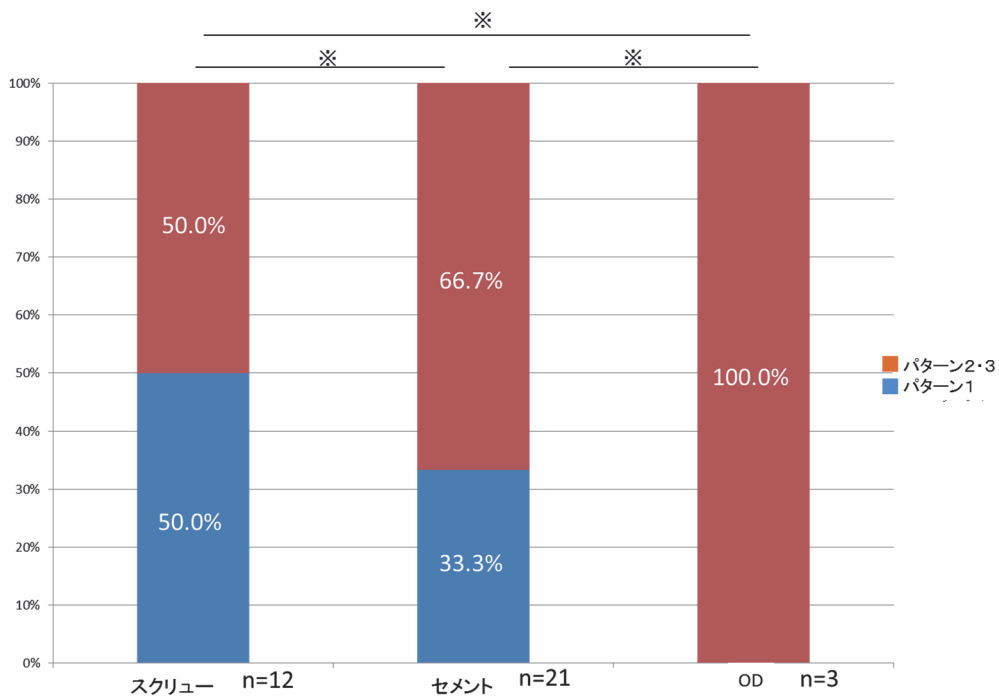


図 14 上部構造の固定様式および可撤式上部構造でのパターンの違い。
※有意差があることを示す (p<0.05)。

成処置としては、骨誘導再生療法 (GBR)、ソケットリフト (SL)、上顎洞底挙上術 (SFE) が含まれている。

12. パターンの違いによる骨吸収量

パターン別にインプラント周囲溝滲出液の採取部位の骨吸収量を計測した結果、パターン1とパターン2・3の間には、有意な差を認めなかった (図 16)。

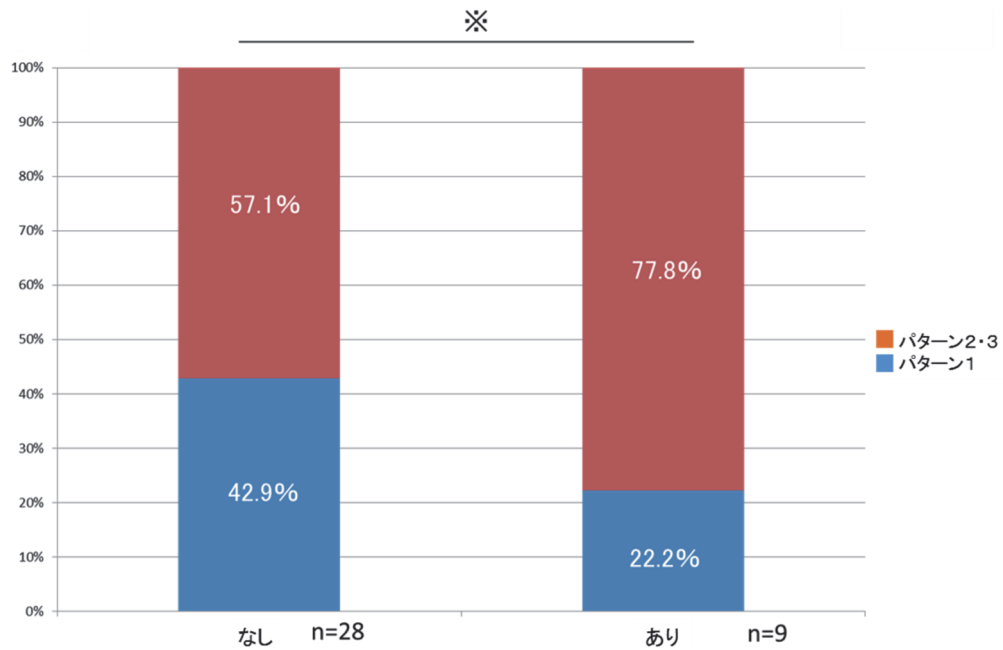


図 15 骨造成の有無によるパターンの違い.
※有意差があることを示す (p<0.05)

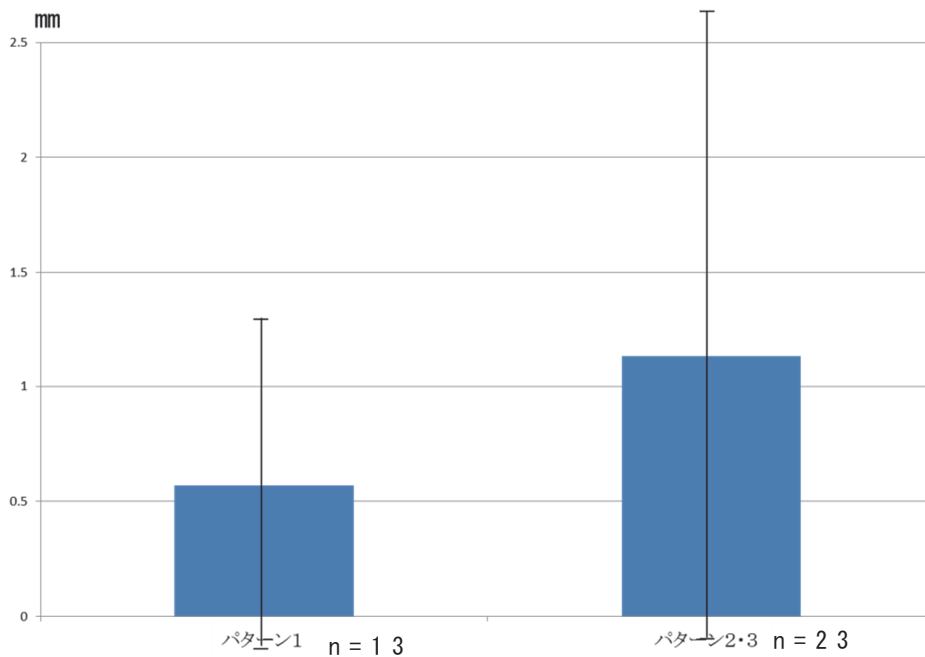


図 16 パターンの違いによる骨吸収量

13. パターンの違いによる IPD

インプラント周囲溝浸出液の採取部位の IPD とパターンの違いを検討した結果、パターン 1 よりもパターン 2・3の方が有意に IPD の値が大きいことが認められた (図 17).

14. IBOP の有無によるパターンの違い

インプラント周囲溝浸出液の採取部位での IBOP とパターンの違いを検討した結果、IBOP 有りにおいて有意にパターン 2・3の割合が高いことが認められた (図 18).

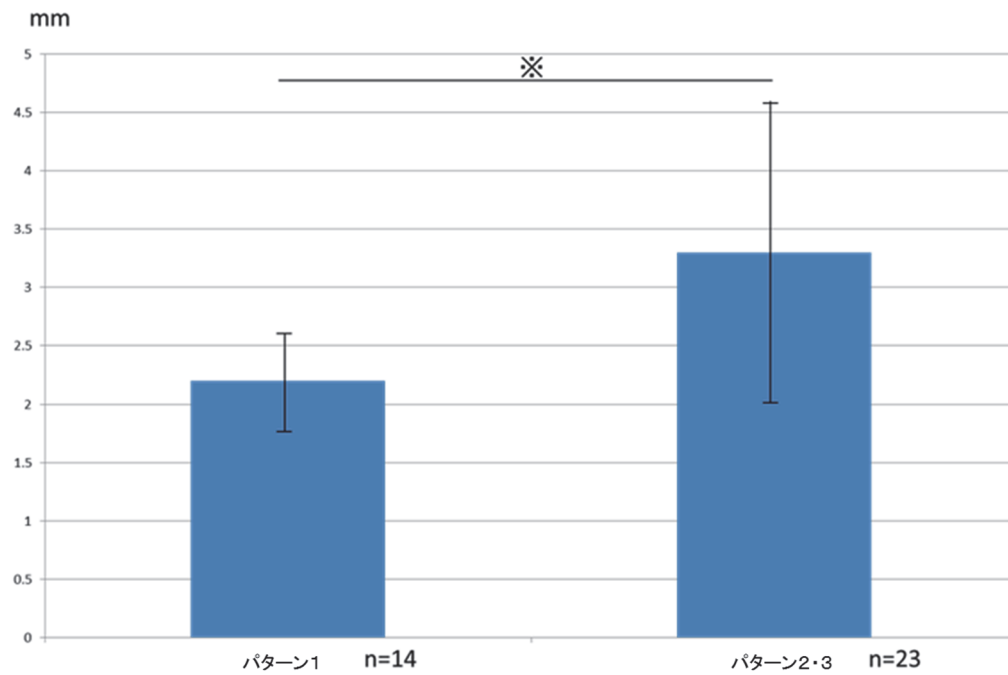


図17 パターンの違いによる IPD.
 ※有意差があることを示す (p<0.05).

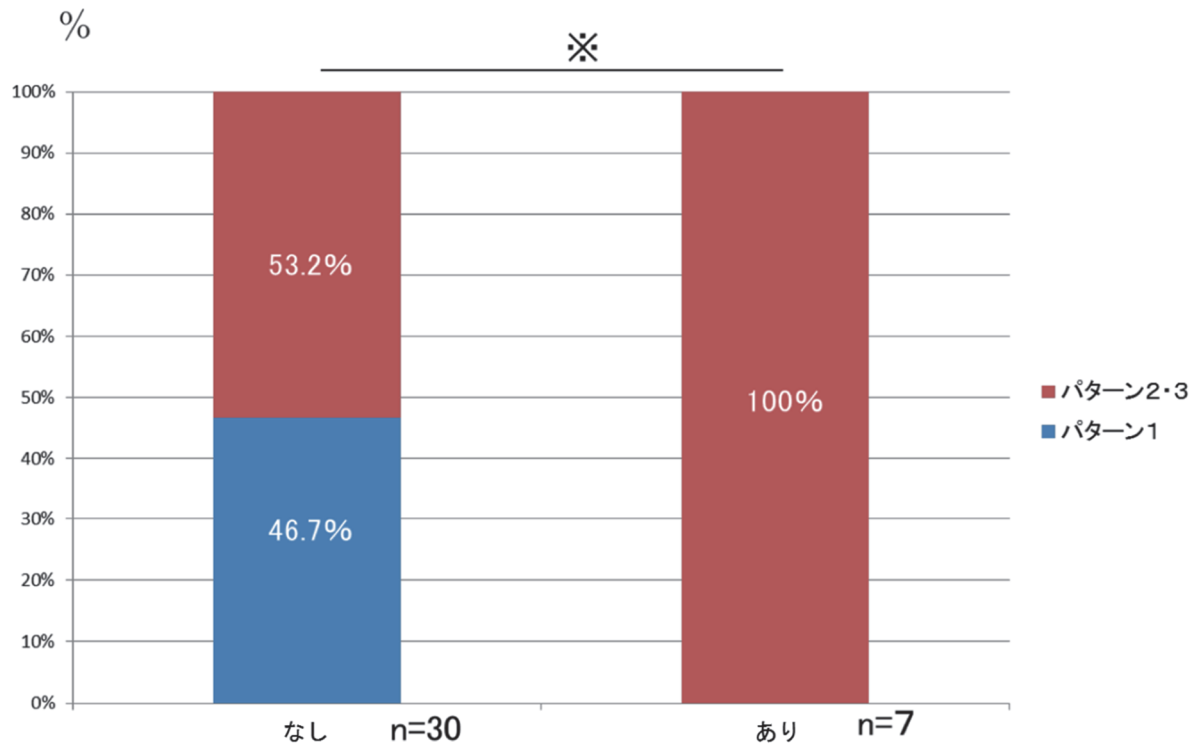


図18 IBOPの有無とパターンの違い.
 ※有意差があることを示す (p<0.05).

考 察

インプラント周囲炎の原因の一つとして口腔清掃不良に伴うプラーク等の付着による細菌感染が挙げられており、それに関する臨床研究報告が散見される。

Agerback ら¹⁴⁾ は、歯周炎関連菌を含む 40 種の細菌の構成比率については、天然歯とインプラント周囲溝の滲出液で比較検討しているが、天然歯の周囲で *Actinomyces* や *Veillonella* のグループが 1.3 から 2.9 倍高いものの、全体として類似していた。また、4mm 以上の歯周ポケットに生息する細菌量は、4mm 以上のインプラント周囲溝の細菌量の約 3 倍であった、ということを経験している。

土永ら²⁵⁾ は、インプラント治療後の臨床経過に関する後ろ向き症例集積研究を行い、インプラント周囲炎においては、歯周病原性細菌が高率で検出され、残存歯から伝播した細菌がインプラント体に持続的に感染している可能性が示唆されるとしている。

芝多ら²⁶⁾ は、インプラント周囲炎の歯周炎罹患部位の両方を有する被検者からプラークを採取し、RNA を抽出後、メタトランスクリプトーム解析を用いて細菌種、病原遺伝子を含めた機能遺伝子、またそれら機能遺伝子を発現している細菌種を検索した。その結果、インプラント周囲炎と歯周炎では細菌叢構成が異なるとしている。

Shibli ら²⁰⁾ は、健康なインプラント周囲粘膜と病的なインプラント周囲粘膜との比較を行い、歯肉縁上および歯肉縁下バイオフィルムの組成に著しい違いがあると、インプラント周囲炎に関連する微生物叢は、歯肉縁上バイオフィルムを含む、より多くの歯周病原性細菌種から構成されていたと、報告している。

Koyanagi ら¹⁸⁾ は、インプラント周囲炎および歯周炎の部位から歯肉縁下プラークサンプルを採取し 16S rRNA 遺伝子クローンライブラリーとリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応を用いて細菌の罹患率を分析した結果、歯周炎よりもインプラント周囲炎の方が多様性であったと報告している。

Máximo ら²⁷⁾ はインプラント周囲炎罹患部のプラークには、*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* といった重度歯周炎に認められる細菌の割合が増えており、治療によってその量や総菌数に占める割合が減少することを示している。

Subramani ら¹⁷⁾ は、インプラント周囲粘膜炎では好気性や通性嫌気性のグラム陰性桿菌やスピロヘータ等歯肉炎と関連した菌が、また、インプラント周囲炎では偏性嫌気性のグラム陰性菌や運動菌等歯周炎と関

連した細菌の割合が増えていることを示している。

加地ら²¹⁾ は、16Sr DNA および 16S rRNA の解析からインプラント周囲溝と歯肉溝の細菌叢を分析し、細菌種のペアが構成する細菌ネットワークは疾患間で大きく異なることを示した。

この様な研究報告において、歯肉炎、歯周炎とインプラント周囲炎での歯肉溝およびインプラント周囲溝の滲出液による細菌叢分析は、概ね同様である、あるいは、より複雑なものであるとの見解が出されているものの、最終的結論は示されていない。

今回のインプラント周囲溝滲出液の歯周病原細菌叢の DNA 分析において同定される細菌叢は 28 種で、これは 2002 年 Socransky ら²³⁾ の報告において、歯周病原菌として示されたものである。

彼らは歯周病の臨床症状と合わせて検討した結果、軽度から重度の歯周炎に認められる細菌叢が変化しており、それぞれの臨床症状において認められる細菌叢群を blue, purple, yellow, green, orange, red とカラーコード分類している。さらに、blue, purple, yellow, green は初期のプラーク形成に関与し、一般的にグラム陰性である orange, red の複合体の増殖に先行しているものとし、orange, red は、初期プラークの形成のないところには見いだせない細菌叢で重度歯周炎において高頻度に認められる細菌叢であるとしている。

その報告をもとに、今回用いた歯周病原菌の DNA チップによる解析手法は、2015, 2016 年の野澤ら^{28, 29)}、笹部ら³⁰⁾ により、本手法により解析した 28 菌種の菌数および総菌数に対する割合と臨床症状とのクラスター分類を行い、それを基にパターン分類を行っている。それらの研究成果により、小田ら³¹⁾ は本手法による口腔内細菌叢解析と臨床所見の関連性評価を検討し、被検部位の多くはその細菌叢のパターン分類と臨床所見が 62.3% において一致したが、一致しない症例もみられた。また、細菌叢をみることで単一細菌の検査のみでは分からなかった歯周病リスク評価ができる可能性が示唆された、としている。

今回の分析結果において、まず、女性にパターン 2・3 が有意に多いことが認められた。これまでのインプラント周囲炎に関するリスクファクターの報告で性別に関する報告は全くなく、今回の分析結果において始めて示されたものである。これには、全身疾患、口腔清掃状態、咬合負担等が関係していると考えるが、今回の結果からはその詳細は不明である。

全身疾患の有無による違いにおいて全身疾患ありで有意にパターン 2・3 が多くなっていた。これは、一般的インプラント治療のリスクファクターおよびメイン

テナンスでのリスクファクターとして示されている³²⁻³⁴⁾ものと一致している。

上下顎別でのパターンの違いにおいて有意に上顎でパターン2・3が多く認められた。これは、インプラント治療の成功率に関して、下顎よりも上顎の成功率が低いという報告と一致するものと考えられる³⁴⁾。

小白歯、大白歯部の違いにおいて大白歯部において有意にパターン2・3が多くなっていることは、清掃性の問題および過重の問題が考えられる³²⁻³⁴⁾。

上部構造の影響に関して、固定式のものではセメント固定、スクリュー固定との比較と可撤式上部構造、今回はODとの比較を行っているが、セメント固定とスクリュー固定では、これまでに報告があるように³⁵⁻³⁷⁾、セメント固定によるインプラント周囲炎の誘発等の指摘があるように今回の検索においてもセメント固定においてパターン2・3の割合が有意に高いことが認められた。また、ODは、固定式のセメント固定、スクリュー固定いずれのものとも比較しても有意にパターン2・3の割合が高く、今回の検索ではODでは100%がパターン2・3であった。これは、兒玉³⁸⁾が総説論文で述べているように、インプラント支持のODの予知性に関しては十分なデータがなく、不明な点が多いということが挙げられる。それは、今回検索したOD症例は3症例であり、内2症例が上顎、さらに、1症例が全身疾患「あり」というものであった。これらの条件が今回の分析結果となっていると考える。

骨造成の有無によるパターンの違いでは、骨造成ありの部位において有意にパターン2・3の割合が多いことが認められた。今回の分析において骨造成という症例には、SFE1症例、GBR4症例、SL5症例（骨補填剤の使用なし）、その内SFEはGBRとの併用症例である。また、下顎が4症例、上顎が5症例という内訳になっており、上顎という一般的予後不良因子とGBRにより造成する骨はインプラント頸部であり、炎症の発症に伴い破壊吸収されやすい状況であることがパターン2・3の割合を多くしている要因と考える。

パターンの違いによるIPDは、有意にパターン2・3が大きいことが認められた。これは、Mombelliら³⁹⁾により提唱されたインプラント周囲炎に対する累積的防御支持療法（Cumulative Interceptive Supportive Therapy: CIST）の中で、インプラント周囲組織の状態の評価にプラークの付着、IBOP、排膿、IPD、骨吸収といった項目が挙げられており、IPDがインプラント周囲炎の状態を把握する上での診査項目になっている。これは、歯周疾患でも同様であるが、本細菌叢分析手法を用いた小田ら³¹⁾の報告においても、パターン2あるいは3といった細菌叢が検索される症例では

IPDが深くなることが示されている。

IBOPの有無とパターンの違いでは、IBOP「あり」の症例では全てがパターン2・3であった。このことは先にも述べたCISTにおけるインプラント周囲炎の状態評価項目であり、小田ら³¹⁾により示された本細菌叢分析手法を用いた歯周疾患の臨床所見との関連性の評価において、パターン3においては80%、パターン2においては40%近くまでの症例においてIBOP「あり」であったとしている。また、パターン1では、98%近くの症例においてIBOP「なし」であったとしている。今回の分析では、IBOP「あり」においてパターン2・3が100%となった。しかし、IBOP「なし」の症例でパターン2・3が53.2%となっていたことは、歯周炎における細菌叢とインプラント周囲炎における細菌叢が明らかに違っていることを示すものであると考える。

結 論

本研究では、インプラント周囲溝滲出液を検体として、DNAチップを用いた口腔細菌叢の解析結果と歯周炎の臨床所見との関連性を評価したパターン分類を応用し、インプラント治療の臨床的経過との関連性を評価し以下の結論を得た。

1. 女性において男性との比較で有意にパターン2・3の割合が高くなっていた。
2. 全身疾患の有無において、全身疾患「あり」の症例では有意にパターン2・3が高くなっていた。
3. 上下顎別でのパターンの違いにおいて、パターン2・3の割合が有意に上顎で高くなっていた。
4. 小白歯、大白歯部でのパターンの違いでは、パターン2・3の割合が有意に大白歯部で高くなっていた。
5. 上部構造違いでのパターンの違いでは、スクリュー固定よりもセメント固定でパターン2・3の割合が有意に高くなっており、可撤式上部構造においては固定式のものより有意にパターン2・3の割合が高くなっていた。
6. 採取部位の骨造成の有無によるパターンの違いにおいては、骨造成「あり」においてパターン2・3の割合が有意に高くなっていた。
7. パターンの違いによるIPDは、パターン2・3が有意に大きくなっていた。
8. IBOPの有無によるパターンの違いにおいては、IBOP「あり」においてパターン2・3の割合が有意に高くなっていた。しかし、IBOP「なし」の症例において53%程度は、中等度から重度歯周疾患において検出される歯周病原細菌が増大していることが示された。

以上のことより、インプラント周囲炎のリスクファ

クターであるとされている種々の要因が存在することで、歯周炎の中等度から重度でのパターン2・3が有意に多くなることが認められた。一方で、IBOP「あり」においてパターン2・3が100%となったが、IBOP「なし」の症例でパターン2・3が53.2%となっていたことは、歯周炎における細菌叢とインプラント周囲炎における細菌叢が明らかに違っていることを示すものであると考える。

今後、それぞれの症例において増大する細菌叢を具体的に検討し、詳細なインプラント歯周炎発症の危険性を解明していく必要がある。

引用文献

- 1) Wennerberg A and Albrektsson T. Current challenges in successful rehabilitation with oral implants. *J Oral Rehabil.* 2011; 38: 286-294.
- 2) 城戸寛史. インプラントと天然歯の共存を考える補綴治療計画 インプラントと天然歯の共存を考慮した咬合再構成. *日補綴誌.* 2014; 6: 149-154.
- 3) Trullenque-Eriksson A and Guisado Moya B. Retrospective long-term evaluation of dental implants in totally and partially edentulous patients. Part I: survival and marginal bone loss. *Implant Dent.* 2014; 23: 732-737.
- 4) 村上 洋, 末石哲之, 安岡沙織, 毛塚和哉, 北川剛至, 玉木大之, 井下田繁子, 加藤仁夫. インプラント治療患者の予後に関する研究 術後10年以上経過症例のインプラント体残存率. *日大口科誌.* 2014; 39: 161-165.
- 5) Lindhe J and Meyle J. Group D of European workshop on periodontology. Peri-implant diseases: Consensus report of the sixth European workshop on periodontology. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 282-285.
- 6) 城戸寛史; 永原國典編. 歯学生・卒後研修医・若い歯科医師のために歯科インプラント治療ガイドブック. 改訂新版. 東京: クインテッセンス出版株式会社; 2015. 28-40.
- 7) Cortes AR, Ferraz P and Tosta M. Influence of etiologic factors in peri-implantitis: Literature review and case report. *J Oral Implants.* 2012; 38: 633-637.
- 8) Silverstein LH, Lefkove MD and Garnick JJ. The use of free gingival soft tissue to improve the implant/soft-tissue interface. *J Oral Implantol.* 1994; 20: 36-40.
- 9) 富岡栄二, 弘岡秀明, Serino G. インプラント周囲病変の治療と予防. *歯界展望.* 2013; 121: 815-832.
- 10) Schwarz F, Derks J, Monje A and Wang HL. Peri-implantitis. *J Clin Periodontol.* 2018; 45: s246-s266.
- 11) 高橋慶壮. 歯周炎患者におけるインプラント周囲炎の病態と治療法. *日歯周学誌.* 2017; 58: 236-253. 12) 藤本浩平. インプラント周囲炎の診査, 診断, 対応の現状とその予防. *歯界展望.* 2016; 127: 462-478.
- 13) Hultin M, Gustafsson A, Hallström H, Johansson LA, Ekfeldt A and Klinge B. Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13: 349-358.
- 14) Agerback MR, Lang NP, Persson GR. Comparisons of bacterial patterns present at implant and tooth sites in subjects on supportive periodontal therapy. I. Impact of clinical variables, gender and smoking. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17: 18-24.
- 15) Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I and Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine' peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17: 25-37.
- 16) Ong CT, Ivanovski S, Needleman IG, Retzepi M, Moles DR, Tonetti MS and Donos N. Systematic review of implant outcomes in treated periodontitis subjects. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 438-462.
- 17) Subramani K, Wismeijer D. Decontamination of titanium implant surface and re-osseointegration to treat peri-implantitis: a literature review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2012; 27: 1043-1054.
- 18) Koyanagi T, Sakamoto M, Takeuchi Y, Maruyama N, Ohkuma M and Izumi Y. Comprehensive microbiological findings in peri-implantitis and periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2013; 40: 218-226.
- 19) Maruyama N, Maruyama F, Takeuchi Y, Aikawa C, Izumi Y and Nakagawa I. Intraindividual variation in core microbiota in peri-implantitis and periodontitis. *Sci Rep.* 2014; 4: 1-10.
- 20) Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Favari M and Feres M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19: 975-982.
- 21) 加地博一, 丸山緑子, 丸山史人, 芝多佳彦, 渡辺孝康, 郷田 瑛, 村瀬一典, 道 泰之, 竹内康雄, 和泉雄一, 山口 聡, 中川一路. 細菌活動性から顕在化するインプラント周囲炎および歯周炎の疾患特異的な細菌群集内の共起構造. *口病誌.* 2017; 84: 25-36.
- 22) Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C and Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998; 25: 134-144.
- 23) Socransky SS and Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002; 28: 12-55.
- 24) 竹内康雄. 天然歯周囲組織とインプラント周囲組織2-歯周炎, インプラント周囲炎の正確な理解と対応に向けて-天然歯周囲とインプラント周囲の細菌叢. *歯界展望.* 2014; 123: 481-486.
- 25) 土永浩史, 三辺正人, 横山佳子, 藪 沙織, 杉山貴志, 児玉利朗. 細菌検査を用いたインプラント治療の臨床

- 経過に関する後ろ向き症例集積研究. 日口インプラント. 2013 ; 26 : 21-29.
- 26) 芝多佳彦, 竹内康雄, 渡辺孝康, 小柳達郎, 丸山緑子, 加地博一, 村瀬一典, 丸山史人, 中川一路, 和泉雄一. インプラント周囲炎と歯周炎の細菌学的な違いを科学する 口腔細菌生態系の解明へ - メタトランスクリプトーム解析からのアプローチ. 歯界展望 2017 ; 12 : 823-826.
- 27) Máximo MB, de Mendonça AC, Renata Santos V, Figueiredo LC, Feres M, Duarte PM. Short-term clinical and microbiological evaluations of peri-implant diseases before and after mechanical anti-infective therapies. *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20: 99-108.
- 28) 野澤あい, 野崎剛徳, 北村正博, 村上伸也. 口腔内バイオフィルム解析用オーラルケアチップの開発. 日歯周病学誌. 2015 ; 57 巻秋季特別 : 136.
- 29) 野澤あい, 野崎剛徳, 北村正博, 村上伸也. 口腔内バイオフィルム解析用オーラルケアチップの開発. 日歯科医師会誌. 2016 ; 69 : 498.
- 30) 笹部奈津季, 高山和人, 船橋英利, 熊谷知弘. DNA チップによる歯肉溝滲出液中の口腔内細菌叢解析と臨床情報との関連. 日歯周病誌. 2017 ; 59 : 183.
- 31) 小田奈津季, 高山和人, 船橋英利, 熊谷知弘, 野澤あい, 村上伸. DNA チップによる口腔内細菌叢解析と臨床所見の関連性評価. 日歯周病学誌. 2017 ; 59 巻春季特別 : 139.
- 32) Poli PP, Beretta M, Grossi GB and Maiorana C. Risk indicators related to peri-implant disease: an observational retrospective cohort study. *J Periodontal Implant Sci.* 2016; 46: 266-276.
- 33) 阿部伸一, 伊東隆利, 江藤隆徳, 小倉 晋, 春日井昇平, 加藤仁夫, 金田 隆, 城戸寛史, 佐藤 聡, 玉置幸道, 永原國央, 廣瀬由紀人, 廣安一彦, 前田芳信, 松浦正朗, 松下恭之, 松永 智, 矢島安朝, 山口秀紀, 渡邊文彦. XVII インプラント治療におけるトラブルと合併症. 公益社団法人 日本口腔インプラント学会 編: 口腔インプラント治療指針 2016. 医歯薬出版, 東京, 2016 ; 65-69.
- 34) Moraschini V, Poubel LA, Ferreira VF, Barboza Edos S. Evaluation of survival and success rates of dental implants reported in longitudinal studies with a follow-up period of at least 10 years: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2015; 44: 377-388.
- 35) 大音孝一, 元村洋一, 毛内伸威, 松田 哲, 荒木久生. インプラント上部構造が周囲組織に及ぼす影響 インプラント周囲炎と上部構造の固定方法との関係. 日口インプラント誌. 2002 ; 15 : 17-23.
- 36) 笹本洋平, 宮川博史, 植 原治, 廣瀬由紀人, 遠藤一彦, 越智守生. インプラント用として開発したフィチン酸含有試作セメントが口腔内細菌と歯周組織由来細胞へ与える影響の検討. 北医療大歯誌. 2017 ; 36 : 23-32.
- 37) Wilson TG Jr. The positive relationship between excess cement and peri-implant disease: a prospective clinical endoscopic study. *J Periodontol.* 2009; 80: 1388-1392.
- 38) 兒玉直紀. オーバーデンチャーによる機能回復 インプラントオーバーデンチャーの有効性 全部床義歯との比較. 日補綴学誌. 2017 ; 9 : 304-310.
- 39) Mombelli A. Aging and the periodontal and peri-implant microbiota. *Periodontol 2000.* 1998; 16: 44-52.