

D. 考察

歯肉メラニン色素沈着は見えることから、喫煙者本人が認識でき、親が子どもの健康影響を認識することができる。そして、医療者も、喫煙者や子どもの親に対して、本人への影響をその場で指摘できる利点がある。

能動喫煙の場合、喫煙者の81%に歯肉のメラニン色素沈着が認められ、73%に口唇の沈着が認められたことから、喫煙者の5人のうち4人には歯肉の着色、4人のうち3人には口唇の着色を喫煙と関連づけて説明することができる。

次に、親が喫煙者の場合には、その子どもの83%の歯肉にメラニン色素沈着が認められたことから、5人の喫煙する親のうち4人に対して子どもの歯肉の着色を親の喫煙と関連づけて説明することができる。

本研究の結果は、多くの喫煙者に対して、喫

煙の健康影響を、目の前の本人の身体を直接示して教育することができることを示している。

横断研究では、煙草煙曝露の影響を曝露群と非曝露群の有症率を比較することによりオッズ比で計算される。一方、臨床では、症状が見えることから、喫煙者の推定に用いることも考えられる。色素沈着の所見ありの者の喫煙者割合は、歯肉では75%、口唇では63%であり、子どもの所見ありの者の親の喫煙者割合は71%であった。このことは、歯肉・口唇の色素沈着の所見=喫煙でないことを意味しており、色素沈着の所見から喫煙を推定することには注意が必要である。しかし、メラニン指数が7以上の者および口唇セクスタントが5以上の重度の沈着所見者は全て喫煙者であり、この場合には禁煙教育に確実に用いることができる。

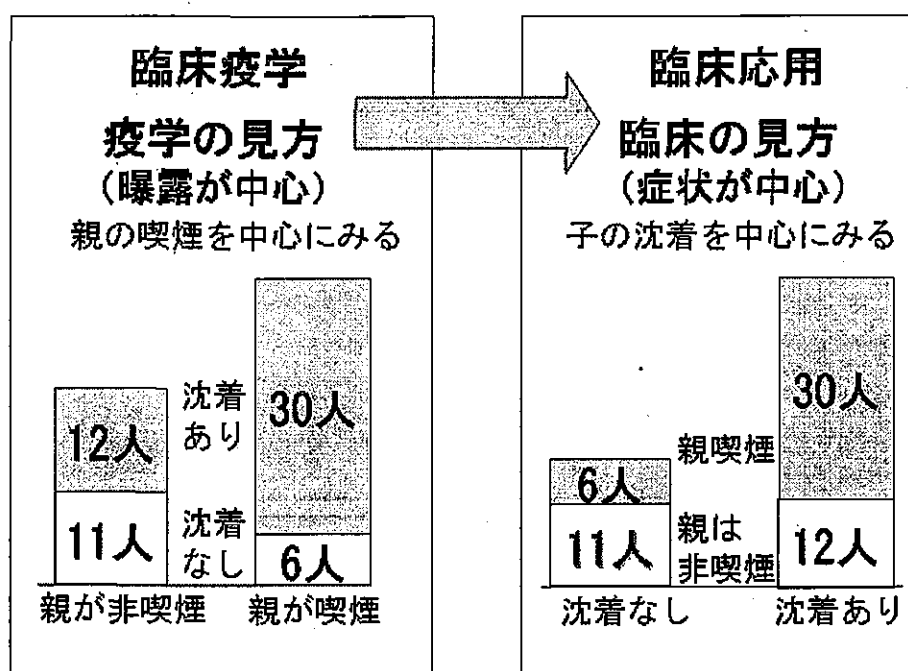


図 9

研究③ 歯科疾患実態調査と国民栄養調査とのリンケージデータ解析

A. 目的

米国では大規模調査（NHANESⅢ）のデータを利用して、煙草煙曝露と歯周病、根面う蝕、小児う蝕との関連性が示された。

わが国では歯科疾患実態調査と国民栄養調査との各データをリンケージすることにより、煙草煙曝露と口腔疾患との関連性を追究することが可能である。国民レベルでの煙草煙曝露と口腔疾患・症状との関連性が明らかになれば、歯科診療機関受診者だけでなく公衆衛生レベルで、口腔保健を目的としたたばこ対策を行うことの意義が確認できる。

本研究では、国家統計である両調査の目的外使用の許可手続きを経てリンケージデータの分析を行い、大規模集団における煙草煙曝露と口腔疾患との関連性について分析する。

B. 方法

2つの国家統計調査データの使用は目的外使用となる。それぞれのデータは、健康局生活習慣病対策室および医政局歯科保健課が所管している。それぞれのデータの使用申請に必要な書類の作成を前年度の文献検討結果に基づいて行った。

C. 結果

国民栄養調査の調査客体は、平成11年国民生活基礎調査により設定された単位区から無作為抽出した300単位区内世帯：約5,000世帯および構成員：約15,000人で、調査者数は12,763人となる。一方、歯科疾患実態調査の客体は6,903人であり、少ない方の歯科疾患実態調査の電子データが分析対象となる。平成16年度は、これらの個票電子データの使用申請を、それぞれ、健康局生活習慣病対策室および医政局歯科保健課に行った。

E. 結論

(1) ガムタバコ等の新しい剤形の無煙タバコ製品の販売は世界で限られている。一方、製品としての無煙タバコは欧米諸国での歴史があり、紙巻タバコ流行および喫煙対策の進展等の社会的・経済的背景を勘案した科学に立脚した議論が行われており、これらの内容を参考にして、日本独自の対策を検討する必要がある。(研究①)

(2) 歯肉および口唇メラニン色素沈着は、能動喫煙と関連があり、この所見は、喫煙者の多数(75%以上)に認められた。したがって、喫煙の身体影響を、喫煙者本人自身の身体で認識することができ、また、医療者が、喫煙の影響を指摘することができる機会が、公衆衛生の場で非常に多いことが判明

した。(研究②)

(3) 子どもの歯肉のメラニン色素沈着は受動喫煙と関連があることが判明した。子どもの親が喫煙者の場合には、子どもの83%に色素沈着があることから、多数の喫煙する親に、子どもの歯肉の色素沈着と親の喫煙とを関連付けて説明できる機会があることがわかった。したがって、母子保健の場で、親の禁煙、子どもの受動喫煙防止のために教育に有用である可能性が示唆された。(研究②)

F. 研究発表

1. 論文発表

歯肉メラニン色素沈着と喫煙の関係、
歯界展望 103(6)・2004・1108-9
歯周病と全身疾患 喫煙と歯周病、禁
煙治療、細胞 36(6)・2004・9-12
無煙たばこ、からだの科学 237・2004・
55

Association of melanin pigmentation
in the gingiva of children with
parental smoking, Pediatrics
Electronic Pages・2005・印刷中

2. 学会発表

親の喫煙状態と小児の歯肉メラニン色素沈着との関連性、第63回日本公衆衛生学会、2004年10月、松江市
喫煙習慣が関係する歯肉および口唇のメラニン色素沈着の疫学研究、第26回日本口腔衛生学会九州地方会、2004年11月、那覇市

Relationships between smoking and melanin pigmentations in gingiva and lip, 第44回国際歯科研究学会日本部会(JADR)総会、2004年11月、東京都

シンポジウム 喫煙問題 up to date

4. 歯科・口腔外科の立場から、第14回日本禁煙医学会、2005年2月、三鷹市

親の喫煙状況と小児の歯肉メラニン色素沈着との関連性を禁煙推進に活かすための Pros & Cons、第14回日本禁煙医学会、2005年2月、三鷹市

3. ジャーナリズム

子の歯ぐき黒ずみ喫煙家庭に顕著、厚生労働省研究班、2004年10月4日、朝日新聞社会面(西部本社版、愛知版)
高齢化社会にあった禁煙は歯科の重要テーマ、2005年1月1日、健康教育情報誌「家族と健康」、(社)日本家族計画協会

G. 研究協力者

青山 旬(国立保健医療科学院)、松尾忠行(福岡医療短期大学)、井下英二(滋賀県健康福祉部健康対策課)、小島美樹(大阪大学院歯学研究科)、田中景子(福岡大学医学部)、劉 中憲(福岡歯科大学)

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）

分担研究報告書

口腔疾患、特に歯周疾患に及ぼす煙草煙の悪影響とその対策に関する研究
— 煙草煙暴露と口腔粘膜疾患との関連性に関する調査 —

分担研究者 瀬戸 皖一 鶴見大学歯学部教授

研究要旨

平成15年度におこなった口腔外科外来を訪れた1022名の調査では、Brinkman 指数、Sake 指数について有意差が認められた。これらのデータからさらに口腔粘膜疾患における煙草煙との関係をオッズ比を用いて検討した。口腔粘膜疾患においては、1日20本以上の喫煙、30年以上の喫煙期間が口腔粘膜疾患とのリスクとして高く関与していることがわかった。

スウェーデンにおける文献調査では、喫煙率が日本よりも低い但其の代わり嗅ぎたばこが普及している。嗅ぎたばこに関してはほとんど人体に害がないといわれているが、ニコチンが体内に取り込まれることにはかわりない。日本において発売されたガムタバコについては、まず発がん物質ニトロソアミン類について体内への取り込み量について検証していく必要がある。

A. 目的

禁煙運動は各国でそれぞれに進展し、市民運動から国民運動へと大きな波となって発展しつつある。我が国では、「健康日本21計画」の策定や「健康増進法」の施行、さらには各種の学術団体や禁煙団体の禁煙運動が高まって、教育機関、交通機関、公共施設などの禁煙化が展開されている。WHO のたばこ規制枠組み条約（2003年）にも調印し、世界の動きに連動してあらゆる面からたばこ規制に取り組むことになった。しかし、我が国

の喫煙率の減少は、米英などに比べて緩慢であると指摘されている。

さらに、最近、煙の出ないたばこ製品のガムタバコが日本へ潜入しつつある。南アジアなど噛みたばこ常習地域における口腔がん多発傾向から考えると、噛みたばこが浸透すれば数十年後には日本でも口腔がんが急増する危険性が考えられる。噛みたばこは安価で入手しやすく、低所得者や未成年者、小学生でも容易に入手でき、しかも煙が出ないので未成年者の使用が潜航して広まりやすい。この

新たな習癖の蔓延によって、日本人の健康が著しく損なわれることが懸念される。

ニコチンの毒性は噛みたばこでも変わらない。喫煙や噛みたばこによる口腔疾患として、口腔がん、歯周病、口腔粘膜病変があり、たばこ常用者では非用者の数倍のリスクがある。また、喫煙や噛みたばこの習慣がある者では、歯周病、歯肉退縮、齲蝕の治癒が遅延する。これまでの研究によれば、喫煙量が多いと口腔がんと歯周病のリスクは増大するが中止すると低下し、噛みたばこについても止めれば口腔粘膜病変は治癒すると報告されている。

しかし日本にはこの習慣がないため、ガムタバコの侵入による害を具体的に指摘することは難しい。そこで、他国のガムタバコの現状を把握しそれにより研究調査をおこなうことを目的とした。

B. 研究方法

5施設の口腔外科外来に来院した20歳以上の患者を被験者とし、研究内容を説明して同意を得た後に、質問票にて調査を行った。質問票の項目は、年齢、性別、既往歴、家族歴、喫煙歴の有無、Brinkman 歯数、飲酒歴の有無、Sake指数、口腔衛生状態、不良補綴物、口呼吸の有無、歯ブラシの回数、睡眠時間、嗜好品の種類、口腔粘膜疾患の有無であった。それぞれについて、口腔粘膜疾患との関連性について分析を行った。調査票は無記名で患者の研究への同意を得た。そのデータを

もとに今年度は、口腔粘膜疾患における煙草煙との関係をオッズ比を用いて検討した。

ガムタバコについては文献調査をおこなった。

C. 研究結果

今回は、口腔粘膜疾患のある、なしについて各項目との検討を行った。

現在の喫煙の有無は、口腔粘膜疾患の有無と相関はみられなかった。1日の喫煙量、喫煙年数、Binkman 指数では有意差がみられた。オッズ比でみると口腔粘膜疾患においては、1日20本以上の喫煙、30年以上の喫煙期間が口腔粘膜疾患とのリスクとして高く関与していることがわかった。

スウェーデンにおいて多く出回っている嗅ぎたばこは、湿性の嗅ぎたばこである。1980年代にスウェーデン人の口腔がん患者410人とコントロール群410人に質問表を用いて行なった調査によれば、口腔がんの危険因子は煙たばことアルコール摂取において有意に高い値を示した。しかし嗅ぎたばこについては、危険因子としての有意差はみられなかった。

しかしながら最近では、スウェーデンにおいて嗅ぎたばこの鼻粘膜への挿入は殆ど行われておらず、もっぱら口腔粘膜(歯肉頬移行部)へ挿入しているという。たばこの口腔粘膜への影響についてのデータは、ことによると10年後でないと得られないかもしれない。

D. 考察

今回の結果からは、1日の喫煙量、喫煙年数、飲酒の程度、飲酒年数において有意差がみられた。さらにオッズ比からは口腔粘膜疾患においては1日20本以上、さらに30年以上喫煙していることが高いリスクとなっていることがわかった。

今年度は調査することができなかったが、口腔粘膜疾患を病名で分類し、喫煙煙に影響を受けやすいものとそうでないものに分け、検討していきたい。さらに、1日喫煙本数と喫煙口腔粘膜疾患のリスク、禁煙後経過年数と口腔粘膜疾患のリスクとの関係を調査していくことにより、より具体的な口腔粘膜と煙草曝露について明らかにしていきたい。

煙の中のニコチンは喫煙習慣の成立と持続に主要な役割を担っているが、それ自体も強烈な毒物である。ニコチンが吸収されると、その影響は精神神経機能のほか心臓血管機能に顕に現れ、代謝や内分泌系にも変化が生ずる。経口致死量は成人で40~60mg、小児で10~20mg、嘔吐発現量は2~5mgであるが、シガレット1本には10~25mgも含まれている。

たばこの煙には、たばこの成分と、それが熱分解、熱合成された約4,000種類に及ぶ多様な化合物が含まれている。その中には、ニトロソアミン類や多環性炭化水素などの多くの有害物質や60種類の発がん性物質が知られている。約60種類の化合物は実験動物にがんを起こし、その

うち9種の化合物は人間にもがんを起こす可能性がある。発がん性が確認されているニトロソアミン類のうち、たばこ葉あるいはたばこ煙だけに含まれるものはたばこ特異的ニトロソアミン (TSNA) と呼ばれ、強力な発がん性をもつ。たばこ製造の過程でたばこ葉に含まれるニコチンとその誘導体から形成されるが、1日20本の喫煙によって4.5~45mgが喫煙者の体内に取り込まれる。

ガムタバコの成分の人体への影響、特に悪性腫瘍誘発性についての検討していくうえでは、発がん性のあるといわれているニトロソアミン類の含有量、不純物を分析調査することが課題であるといえる。そのなかで、ガムタバコ成分の口腔粘膜透過性に関する比較検討やガムタバコ成分の血中濃度と組織内濃度を測定し、蓄積効果も検索することが必要である。

また、問題としては未成年者の喫煙は法によって禁じられているが、実態として少なからぬ未成年者が喫煙をしていて、保健上も教育上も大きな問題となっている。若年者の喫煙習慣は諸外国でもあり、禁煙が進まない最大のネックになっている。特にガムタバコは煙が出ないので、口に含んでいても外見から識別できないことがあり、補導は難しい。この問題をいかに克服するか真剣に考える必要がある。

E. 結論

口腔粘膜疾患の発現においては、現在

の喫煙、飲酒よりも、喫煙年数、飲酒年数が関与することが考えられた。

ガムタバコに関する日本におけるデータはほとんどないため、口腔もしくは人体への影響についてのデータの蓄積が必要と思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 研究発表

堀江彰久、瀬戸皖一：「煙草煙暴露と口腔粘膜疾患との関連性についての調査」

第59回日本口腔科学会総会（徳島）

H. 研究協力者

島原 政司

（大阪医科大学教授）

千葉 博茂

（東京医科大学教授）

山本 悦秀

（金沢大学医学部教授）

今井 裕

（独協医科大学教授）

堀江彰久

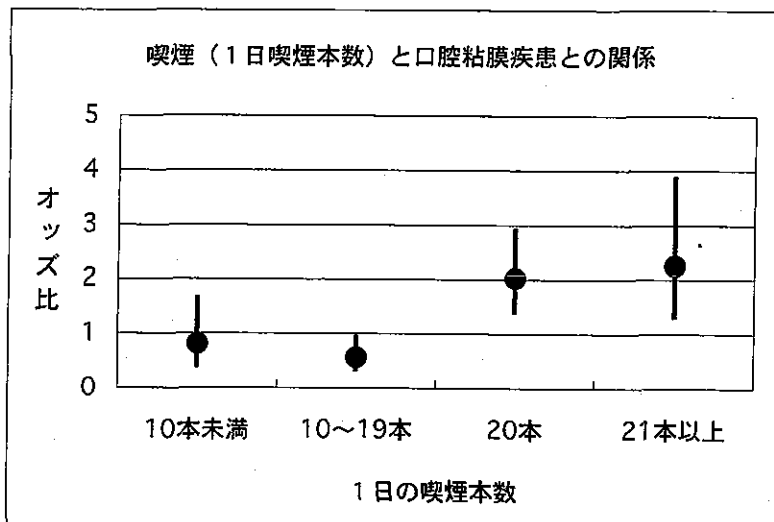
（鶴見大学歯学部）

「口腔粘膜調査」集計結果表

1日喫煙本数

	0本	10本未満	10~19本	20本	21本以上	合計
口腔粘膜疾患あり	168	11	22	73	29	303
	55.4	3.6	7.3	24.1	9.6	100.0
口腔粘膜疾患なし	404	33	94	87	31	649
	62.2	5.1	14.5	13.4	4.8	100.0
合計	572	44	116	160	60	952
	60.1	4.6	12.2	16.8	6.3	100.0

	オッズ比	95%信頼区間	
		下限	上限
0本	1.000	-	-
10本未満	0.802	0.396	1.623
10~19本	0.563	0.342	0.926
20本	2.018	1.409	2.890
21本以上	2.250	1.314	3.850

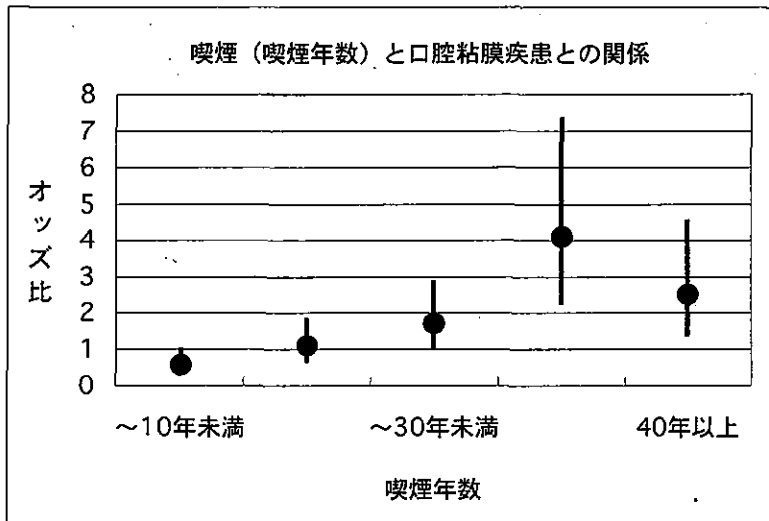


「口腔粘膜調査」集計結果表

喫煙年数

	0年	～10年未満	～20年未満	～30年未満	～40年未満	40年以上	合計
口腔粘膜疾患あり	168	18	28	29	34	25	302
	55.6	6.0	9.3	9.6	11.3	8.3	100.0
口腔粘膜疾患なし	404	78	61	41	20	24	628
	64.3	12.4	9.7	6.5	3.2	3.8	100.0
合計	572	96	89	70	54	49	930
	61.5	10.3	9.6	7.5	5.8	5.3	100.0

	オッズ比	95%信頼区間	
		下限	上限
0	1.000	-	-
～10年未満	0.555	0.322	0.955
～20年未満	1.104	0.682	1.788
～30年未満	1.701	1.023	2.828
～40年未満	4.088	2.287	7.308
40年以上	2.505	1.391	4.511

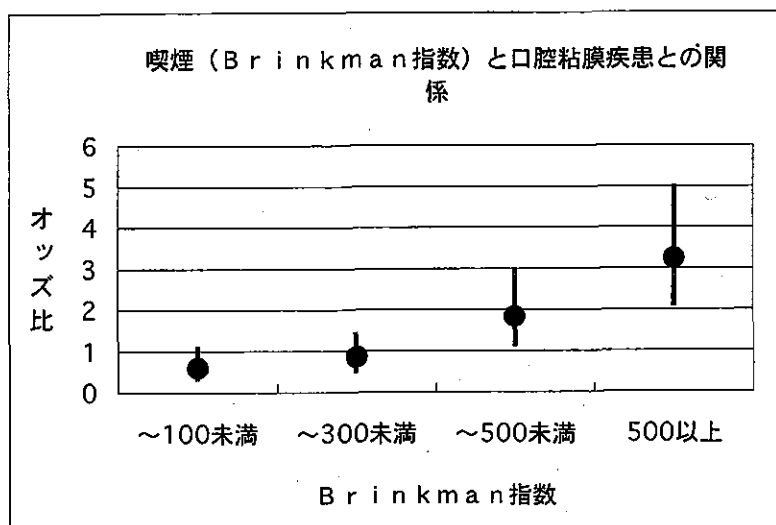


「口腔粘膜調査」集計結果表

Brinkman指数

	0	~100未満	~300未満	~500未満	500以上	合計
口腔粘膜疾患あり	168	16	24	35	59	302
	55.6	5.3	7.9	11.6	19.5	100.0
口腔粘膜疾患なし	404	65	68	46	44	627
	64.4	10.4	10.8	7.3	7.0	100.0
合計	572	81	92	81	103	929
	61.6	8.7	9.9	8.7	11.1	100.0

	オッズ比	95%信頼区間	
		下限	上限
0	1.000	-	-
~100未満	0.592	0.333	1.053
~300未満	0.849	0.515	1.398
~500未満	1.830	1.138	2.942
500以上	3.225	2.098	4.956



厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）

分担研究報告書

口腔疾患、特に歯周疾患に及ぼす煙草煙の悪影響とその対策に関する研究
分担研究者 奥田克爾 東京歯科大学教授

研究要旨

本研究での、平成16年度には、分担研究員として下記の項目について検討した。歯周病は、歯周病局所のグラム陰性細菌がコミュニケーションを取りながら形成するバイオフィーム感染症として捉えることができる。まず、その形成阻害に働く唾液自然免疫物質ヒスタチンならびにシスタチンの活性について種々検討した。ついで、食物としてクランベリーならびにエッセンシャルオイルのバイオフィーム形成阻害について解析した。心臓冠状動脈狭窄部位の血管内壁プラークに歯周病原性細菌の16S rRNAが検出できることを示し、その検出と喫煙に関連性が見いだせるか否か、retrospectiveな解析をしたが、明らかな関連性を見いだせなかった。喫煙が歯周炎局所細菌叢に与える影響を検討することを目的として慢性歯周炎患者を喫煙群と非喫煙群に分け、その局所細菌について、RT-PCR法によって解析した。喫煙者では歯周ポケットが深くなるにつれて *Tannerella forsythensis*、*Fusobacterium nucleatum*、*Treponema denticola*、および *Campylobacter rectus* の検出率が増加していた。歯周病関連性菌内毒素刺激によって誘導されるヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)からの炎症性サイトカイン産生に及ぼすニコチンの影響について解析した。HUVECからのIL-6産生は、ニコチンあるいはニコレット抽出液存在下では減少した。LPS刺激によりIL-6産生量は顕著に増加したがニコチン添加による影響は認められなかった。IL-8産生は、LPS刺激によって高値を示し、タバコ成分存在下ではわずかに上昇傾向を示した。

A. 研究目的

私たちの口には、歯の周りを中心に500種類におよぶ細菌が千億以上も住み着いている。デンタルプラークであるバイオフィームには、1 mgで細菌数が10億個にも達する。

バイオフィーム細菌に対して抗菌剤は、有効に作用しない。バイオフィーム表層の菌体は、抗菌剤に感受性を示すが、抗生物質などの抗菌薬も消毒薬もバイオフィームを構成するぬるぬるの本体に浸透できないため、中心部の細菌を攻撃することはできない。

唾液中の自然免疫であるヒスタチンの歯周病原性バイオフィーム細菌である *Porphyromonas gingivalis* に対する抗菌活性ならびに炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響をしらべたまた、唾液中自然免疫物質シスタチンのひとヘルパーT細胞からのインターフェロン γ (IFN- γ)産生について解析した。

デンタルプラークというバイオフィームは、極めてユニークな生態系で、複数の細菌が層状になって歯面に付着している。歯肉溝や歯周ポケット内でも、バイオフィームが形成されている。歯肉縁下プラーク細菌は、歯肉溝滲出液を栄養源とする嫌気性グラム陰性菌群で占められている。これらも種々のシグナルを出して生態系を築いている。私たちは、このバイオフィーム形成にクランベリージュースが効果的に作用を発揮するか調べた。

クランベリーは、北アメリカなどの寒冷地に生息するツルコケモモ属の小果実であり、初夏に咲くクランベリーの花が鶴の頭とくちばしに似ていることが名前の由来になっている。果実は酸味と渋みが強く生食には適さないが、アメリカなどでは七面鳥料理のソースには欠かせないものとされており、ジュースやお菓子などにも多く利用されている。

クランベリーの膀胱炎や尿道炎などの尿路感染症にたいする研究は進んでおり、多くの研究報告がされている。クランベリーに多量に含まれるキナ酸が体内でグリシンと抱合して馬尿酸として代謝され、アルカリに傾い

た尿を酸性化すると考えられている。また、尿路上皮への付着抑制効果としては、クランベリー中のポリフェノールの一種であり濃縮タンニンとも呼ばれるプロアントシアニジンによる抑制と、果実中のフルクトースが大腸菌の細胞への付着を抑制するという報告がある。慢性胃炎、胃潰瘍、胃ガンなどの消化器疾患の発症に関わる *Helicobacter pylori* に対する効果も検証されており、この細菌の粘液層への付着をクランベリーが抑えると報告されている。

エッセンシャルオイルは、植物を大きな釜に入れ、下から水蒸気で熱すると水蒸気とともに植物に含まれている香り成分である揮発性物質が気化していく。その蒸気が冷却用のパイプを通過するときには液化し、それを集めてしばらく置いておくと二層に分離する。その上層に分離したものがエッセンシャルオイルである。エッセンシャルオイルを使ったアロマセラピーは、リラクゼーションを第一の目的としているが、多くのエッセンシャルオイルには抗菌作用があり、皮膚の消毒などにその効果が認められている。

今回、クランベリージュースならびにエッセンシャルオイルの歯周病原性バイオフィーム形成阻害効果について *in vitro* での解析をおこなった。

動脈疾患を炎症として捉え、さらにそこに感染が加わっているという知見は、1985年頃から情報が増えた。現在、動脈疾患は炎症性疾患であるということに疑う人はいなくなったといえる。*Chlamydia pneumoniae*, ヒトサイトメガロウイルス、*Helicobacter*

pylori などの微生物が動脈疾患部位に検出されるという報告がなされた。

私たちは、動脈瘤などの動脈疾患部位の包埋材料に、歯周病原菌が見つかることを発表した。歯周病原菌 *Treponema denticola* の特異的な DNA である 16S rRNA を PCR によって見つけた。また、*T. denticola* が、血管内皮細胞に侵入することができることも明らかにした。さらに、*T. denticola* の遺伝子が検出された動脈硬化疾患部位に、菌体が見つかるか否か蛍光顕微鏡で調べ、*T. denticola* の抗原を見つけることができた。今回、心冠状動脈の狭窄をもたらしている血管内壁プラークサンプル中に歯周病原菌が検出されるか Ashimoto らの方法で 51 人の患者について RT-PCR によって調べた。さらに、疾患部位での歯周病原性細菌の検出と喫煙の関連性について retrospective な解析を加えた。

歯周炎患者を喫煙群と非喫煙群に分け、喫煙が歯周炎局所細菌叢に与える影響を検討することを目的としている。6 分割して歯周ポケットの深さが 4 mm 以上存在する部位が、4 部位以上存在する慢性歯周炎患者を喫煙群、非喫煙群に分けて解析した。

歯周病原性細菌 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* からの抽出内毒素 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激に誘導されるヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) からの炎症性サイトカイン (IL-6, IL-8) に注目し、ヒト培養細胞へのタバコ成分の影響について検討した。

B. 研究方法

1. ヒスタチン、シスタチンの働き

ヒスタチンが *P. gingivalis* 菌体表層多糖体によるヒト歯肉繊維芽細胞のアポトーシスを抑えるか否か検討した。さらにシステインプロテアーゼであるシスタチンが CD14 陽性 T 細胞のインターフェロン γ (IFN- γ) 発現を誘導するか否か調べた。

2. バイオフィーム形成阻害実験

口腔内レンサ球菌ならびに歯周病原性 *P. gingivalis* の *in vitro* におけるバイオフィーム形成をクランベリーならびにエッセンシャルオイルが阻害するか否か、マイクロプレートなどを使った方法で検討した。

3. 心臓冠状動脈狭窄部位動脈内壁プラークからの歯周病原性細菌の検出

合計 51 名の患者の心冠状動脈の狭窄をもたらしている摘出部位ならびに血管内壁プラークサンプル中に歯周病原菌が検出されるか Ashimoto らの方法で RT-PCR によって調べた。

4. 慢性歯周炎患者歯周病局所細菌叢に関する研究

慢性歯周炎患者のインフォームド・コンセントをとり、歯周ポケット材料をペーパーポイントで採取すると共に pocket depth (PD), probing on bleeding (POB) を調べた。歯周ポケット材料は、Ashimoto らの方法に準じて RT-PCR によって調べた。私たちは、

東洋防績との共同で歯周病原性細菌検出のための primer 開発をして、それを RT-PCR に利用した。

5. 煙草成分の炎症性サイトカイン産生にどのように関わるか

A. actinomycetemcomitans の LPS 刺激に誘導されるヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)からの炎症性サイトカイン (IL-6, IL-8) に注目し、ヒト培養細胞へのタバコ成分の影響について検討した。

タバコ成分(ニコチンおよびガムタバコからの抽出)とともに培養したときの LPS 刺激による炎症性サイトカインの産生レベルを、非添加細胞と比較した。

ニコチンは、1.35 mM, 135 μM, 13.5 μM 濃度で調べた。ガムタバコ (ニコレット) は、1粒 4 mg を 3 ml リン酸緩衝生理食塩液(PBS)にすりつぶして抽出し、本原液を 10 から 100 倍まで希釈した。それらを 1 週間暴露させ、LPS 暴露後 17 時間で測定した。IL-6, IL-8 産生は ELISA kit で測定した。

C. 研究結果と考察

1. ヒスタチン、シスタチンの働き

ヒスタチンが *P. gingivalis* 菌体表層多糖体によるヒト歯肉繊維芽細胞のアポトーシスを抑える活性を持つことを明らかにした。また、シスタチン SA は、CD14 陽性 T 細胞の IFN-γ の発現を誘導することを見いだした。

2. バイオフィーム形成阻害実験

クランベリージュースは、口腔内レンサ球菌のバイオフィーム形成を濃度依存的に阻害することを明らかにした。

エッセンシャルオイルは、特定の歯周病原性細菌の発育を抑え、*P. gingivalis* の *in vitro* におけるバイオフィーム形成を阻害することを明らかにした。

3. 心臓冠状動脈狭窄部位動脈内壁プラークからの歯周病原性細菌の検出

P. gingivalis, *A. actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Tannerella forsythensis* および *T. denticola* の 16S rRNA が心臓冠状動脈内壁プラークから、それぞれ 21.6%、23.5%、5.9%、21.6%、15.7% の割合で検出された。また、その検出率は、歯周ポケットの深さ、およびその歯肉縁下デンタルプラークからの検出率と関連することがわかった。この結果は、歯周ポケットが深くなると歯肉縁上皮を貫通して血液中に入り込んでいることを示唆するものである。また、*P. gingivalis* ならびに *C. rectus* は、患者の歯周局所からと心臓冠状動脈疾患部位からの検出率に相関あることを示した。また、歯周ポケットの深い患者ほどに、調べた歯周病原性細菌の DNA の検出率が高いことを明らかにした。

今回の解析から、心臓冠状動脈疾患部位からの歯周病原性細菌検出と喫煙、C-reactive protein およびコレステ

ロール値との関連性を見いだすことができなかった。

4. 慢性歯周炎患者歯周病局所細菌叢に関する研究

非喫煙者グループの11名(男3名、女8名)の平均年齢50.1歳、検査41であった。

F. nucleatum, *T. denticola*, *C. rectus*の検出率が増加していた。これに対し、非喫煙者ではP.Dの深さとこれらの菌種との間に関連は認められなかった。P.D 5.0 mm以下の部位での検出率は、すべての菌が非喫煙者のほうで高く、P.Dが6 mm以上の部位では喫煙者のほうが高くなっていた。

T. forsythensis, *F. nucleatum*, *C. rectus*を検出した部位は、すべてBOP(+)であり、*T. denticola*検出部位の93%がBOP(+)であった。非喫煙者で*T. denticola*の存在部位は、BOP(+)部位が多くなっていたが、その他の菌種の存在部位はBOP(-)の部位での検出のほうが多かった。*T. forsythensis*, *F. nucleatum*, *C. rectus*, *T. denticola*の4菌種に関しては、喫煙者で多く検出された。これらの4菌種の存在する喫煙者の歯周ポケット部位は、BOP(+) (+) 69%、平均P.D 6.3 mmであった。*P. gingivalis*, *A. actinomycetem comitans*の検出率は非喫煙者のほうで高かった。一方、*T. forsythensis*, *F. nucleatum*, *T. denticola*, *C. rectus*の検出率は喫煙者のほうが高かった。*P. intermedia*に関しては同程度で、両グループに違いがなかった。

部位の平均BOP(+) 34%、平均P.D 5.0 mmであった。

喫煙者7名(男3名、女4名)の平均年齢40.5歳、検査26部位の平均BOPの深さに比例して*T. forsythensis*が増加していた。

5. 煙草成分の炎症性サイトカイン産生与える影響

HUVECからのIL-6産生は、ニコチンあるいはニコレット抽出液存在下では減少した。LPS刺激によりIL-6産生量は顕著に増加したがニコチン添加による影響は認められなかった。IL-6はTNF- α を調節するサイトカインであり、TNF- α 産生の減少を引き起こすことが報告されている。したがって、IL-6の減少がTNF- α の増加を引き起こし、結果として炎症を引き起こすと考えられる。

IL-8産生は、LPS刺激によって高値を示し、タバコ成分存在下ではわずかに上昇傾向を示した。IL-8は、好中球の遊走能の亢進と活性化に関与し、正常な状態でIL-8の発現は歯周組織の破壊を引き起こすことが報告されている。HUVECのIL-8産生量は、歯周病関連細菌の内毒素刺激により上昇し、ニコチン刺激単独あるいは歯周病関連細菌とニコチン刺激によってわずかながら上昇した。

今後、歯肉上皮細胞を使用して、ニコチンの長期投与の影響について、マウスにニコチンを30日程度腹腔内投与後採血し、サイトカイン量(IL-6、IL-10、TNF- α)を測定する予定である。

D. 結論

本研究で平成 16 年度には、分担研究員として下記の項目について検討した。

(1) 歯周病は、歯周病局所のグラム陰性細菌がコミュニケーションを取りながら形成するバイオフィルム感染症として捉えることができ、その形成阻害に働く唾液自然免疫物質ヒスタチンの抗菌活性を調べた。また、ヒスタチンは、*P. gingivalis* からの炎症性サイトカインの賛成を抑えることをしめした。さらに、唾液中のヒスタチン同様に自然免疫機構として作用するシスタチンは、CD4 陽性 T リンパ球から IFN- γ 産生をもたらすことを明らかにした。

(2) 食物としてクランベリーならびにエッセンシャルオイルのバイオフィルム形成阻害について解析し、ミュータンス菌群を含む口腔内レンサ球菌ならびに *P. gingivalis* などのバイオフィルム形成阻害活性をもつことを示した。

(3) 心臓冠状動脈狭窄部位の血管内壁プラークに歯周病原性細菌の 16S rRNA が検出できることを示し、その検出と喫煙に関連性が見いだせるか否か、retrospective な解析をしたが、明らかな関連性を見いだせなかった。しかし、症例を増やして検討する必要がある。

(4) 喫煙が歯周炎局所細菌叢に与える影響を検討することを目的として慢性歯周炎患者を喫煙群と非喫煙群に分け、その局所細菌について、RT-PCR 法によって解析した。喫煙者では歯周ポケットが深くなるにつれて *T. forsythensis*, *F. nucleatum*, *T. denticola* および *C. rectus* の検出率が増加していた。

(5) 煙草成分の炎症性サイトカイン産生について検討した。歯周病原性細菌の LPS 刺激による HUVEC からの IL-6 産生量は顕著に増加したがニコチン添加による影響は認められなかった。IL-6 の減少が TNF- α の増加を引き起こし、結果として炎症を引き起こすと考えられる。IL-8 産生は、LPS 刺激によって高値を示し、タバコ成分存在下ではわずかに上昇傾向を示した。

E. 研究発表

1. Ishihara K, Nabuchi A, Ito R, Miyachi K, Kuramitsu H. and Okuda K. Correlation between the detection of periodontopathic bacterial DNA in carotid coronary stenotic artery plaque with dental plaque. J. Clin. Microbiol., 42: 1313-1315, 2004.
2. Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K. and Kato T. A comparison of antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. Oral Microbiol. Immunol., 19: 61-64, 2004.
3. Yamanaka A, Kimizuka R, Kato T. and Okuda K. Inhibitory effect of cranberry

- juice on attachment of oral streptococci and biofilm formation.
Oral Microbiol. Immunol., 19: 61-64, 2004.
4. Ishihara K, Kuramitsu H. and Okuda K.
A 43 kDa protein of *Treponema denticola* is essential for dentilisin activity.
FEMS Microbiol. Lett., 232: 181-188, 2004.
 5. Kato T, Ito T, Imatani T, Minaguchi K, Saitoh E. and Okuda K. Cystatin SA, a cysteine proteinase inhibitor, induces gamma interferon-g expression in CD4 positive T cells. Biol. Chem. 385: 419-422, 2004.
 6. Ito T, Komiya-Ito A, Okuda K, Minaguchi K, Saitoh E, Yamada S and Kato K. Murine monoclonal antibody which can distinguish cystatins SA1 and SA2. Mol Immun (in press)
 7. Ishihara K, Nabuchi A, Ito R, Miyachi K, Kuramitsu KH and Okuda K. Need for procedural details in detection of periodontopathic bacterial DNA in the atherosclerotic plaque by PCR. J Clin Microbiol. 42: 4914-4915, 2004.
 8. Miura T, Ishihara K, Kato T, Kimizuka R, Miyabe H, Ando T, Uchiyama T and Okuda K. Detection of heat shock protein but not superantigen by isolated oral bacteria from patients with Behcet's disease.
Oral Microbiol Immun (in press)
 9. Imatani T, Kato T, Okuda K. and Yamashita Y. Histatin 5 inhibits apoptosis in human gingival fibroblasts induced by *Porphyromonas gingivalis* cell surface polysaccharide
Eur J Med Res 29: 528-532, 2004
 10. Sasaki N, Kakishima H, Okuma H, Abe K, Tachino H, Tuschida K, Kubono K, Okuda K and Kato T.
Salivary bisphenol-A levels detected by ELISA after restoration with composite resin. Biol. Mater (in press)

F. 研究協力者

- 加藤哲男
(東京歯科大学微生物学講座助教授)
- 石原和幸
(東京歯科大学微生物学講座助教授)
- 君塚隆太
(東京歯科大学微生物学講座助手)
- 山中あゆみ
(東京歯科大学微生物学講座助手)
- 山田 了
(東京歯科大学保存学第二講座教授)
- 久保田道也
(東京歯科大学保存第二講座大学院生)
- 牧野麻子
(東京歯科大学保存第二講座大学院生)

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
研究報告書

口腔疾患，特に歯周疾患に及ぼす煙草煙の悪影響とその対策に関する研究

歯科学士の喫煙習慣および喫煙に関する意識調査

分担研究者 川口陽子（東京医科歯科大学大学院健康推進歯学分野）

協力研究者 古川清香（東京医科歯科大学大学院健康推進歯学分野）

阿部 智（東京医科歯科大学大学院健康推進歯学分野）

研究要旨

歯科学士の喫煙習慣および患者に対して行う禁煙指導への関心を調査するために，2003年11月～2004年2月に歯科学士（3年生69名，5年生80名）を対象に質問票調査を行った。その結果，学生の喫煙行動は大学入学後に習慣化していること，また，患者への禁煙指導に対して消極的な考えであることが明らかになった。喫煙学生は非喫煙学生と比較して，歯科医師が喫煙することに肯定的な態度を示し，歯科医師による禁煙指導に対して消極的な態度を示していた。今後は，大学入学直後に学生に対して禁煙指導を行い，歯学教育カリキュラムの中に，タバコと健康問題に関する講義や禁煙指導を行うための具体的な訓練プログラムを積極的に取り入れていくことが必要であると考えられた。

A. 研究目的

歯科医師による禁煙指導の利点として，歯科疾患の有病率は高いため歯科医院を受診するあらゆる年齢層の人々に繰り返し介入できること，喫煙による歯や歯肉の着色は直接目で確認しやすいので禁煙への動機づけが行いやすいことなどが挙げられており¹⁻³⁾，実際に，医科や看護などの他分野の人々と歯科医師が協力して禁煙指導を行う

ことによって，長期間の禁煙成功率が上昇することが報告されている^{4,5)}。しかし，禁煙指導に関する研修経験の有無や歯科医師の関心の高低により，患者が受ける指導内容に差が生じるという報告⁶⁾もあり，歯科医院において効果的な禁煙指導を行っていくことは容易ではない。

近年，歯科医師会単位でかかりつけ歯科医による禁煙支援プログラムの提供を

試みている地域もあり⁷⁾、今後、禁煙指導に関する十分な知識と意欲のある歯科医師の増加が求められている。

そのため、歯科大学においても、将来、患者に禁煙指導が行える歯科学生を養成していくことが必要と考えられている。

そこで、歯科学生の喫煙習慣および喫煙に関する意識調査を行い、将来歯科医師として関与する禁煙指導に対する歯科学生の意識の分析を行うこととした。

B. 研究方法

2003年11月～2004年2月に、東京医科歯科大学歯学部3年生69名、5年生80名を対象として質問票調査を実施した。学生に調査の内容と目的を説明して協力を依頼し、学生は自由意志に基づき無記名で調査に参加した。

質問票は国民健康づくり財団「喫煙と健康」調査研究班が作成した質問票⁸⁻¹⁰⁾を歯科学生用に一部改変して使用した。

各質問票項目における関連性は χ^2 検定、習慣的喫煙経験者と試行喫煙経験者の喫煙開始年齢の平均値の差の検定はt検定を用いて分析を行った。統計学的検討に際しては統計解析ソフトSPSS11.0Jを使用した。

C. 研究結果

対象とした学生149名全員が質問票調査に参加した。男性が80名、女性が69名で、平均年齢は3年生:23.0±2.7歳、5年生:24.9±2.7歳であった。

1) 過去の喫煙習慣

図1に示す喫煙習慣による分類¹⁶⁾にしたがって、学生の過去の喫煙習慣および現在の喫煙状況を調査した(表1)。過去に1度でもタバコを吸ったことのある「喫煙経験者」は79名(男性:56名、女性:23名)であった。その中で、タバコを吸ってはみたが習慣には至らなかった「試行喫煙経験者」は41名(男性28名、女性13名)、6ヶ月以上喫煙を継続した「習慣的喫煙経験者」は38名(男性28名、女性10名)であった。初めてタバコを吸った年齢をすべての喫煙経験者に質問したところ、平均年齢は17.6±2.6歳であり、小学生、中学生、高校生時代に喫煙した経験のある者は42.9%であった。図1に示すように、初めてタバコを吸った年齢を「試行喫煙経験者」と「習慣的喫煙経験者」で比較すると、「試行喫煙経験者」では20歳でタバコを試みた者が33.3%と最も多かったが、「習慣的喫煙経験者」では、16歳(23.7%)と18歳(21.1%)が多く、平均年齢に有意な差が認められた(試行喫煙経験者:

18.4±2.4 歳，習慣的喫煙経験者：16.9±2.5 歳， $p<0.05$ ）。一方，習慣的な喫煙を開始した年齢・時期を調査したところ，大学入学時の年齢である 18 歳が 32.4%と最も多く，73%の者が 18 歳以降の大学入学後に習慣的な喫煙を開始していた（図 2）。

2) 現在の喫煙状況

学生全体の現在の喫煙率（毎日喫煙者+ときどき喫煙者）は男性：31.3%，女性：5.8%，計 19.4%で，男女間に有意差が認められた（ $p<0.01$ ）（表 1）。毎日喫煙者の一日の平均喫煙本数は 15.2±7.8 本であった。学年による喫煙率を比較すると，3 年生：13.0%，5 年生：25.0%と 5 年生の喫煙率が有意に高かった（ $p<0.05$ ）。また，毎日喫煙者の中で 1 日に 10 本以上喫煙する者は 3 年生：25.0%，5 年生：77.8%と，5 年生の喫煙本数は多かった（ $p<0.05$ ）。

3) 家族の喫煙状況

家族に喫煙者がいる学生の喫煙率は 30.0%，いない学生の喫煙率は 10.3%であった（ $p<0.01$ ）。家族内の喫煙者としては父親（32.7%）が最も多く，次いで兄弟（15.6%），祖父（5.4%），母親（5.4%），姉妹（3.4%）が挙げられていた。

4) 禁煙試行の有無

喫煙者 38 名の中で，これまで禁煙を試みたことがある者は 30 名（78.9%）であり，学年や性別による差は認められなかった。その中で実際に禁煙に成功した者は女性 6 名（75.0%），男性 3 名（13.6%）で，女性の方が多かった（ $p<0.01$ ）。

5) タバコを吸う理由

タバコを吸う理由として喫煙者が多く挙げたのは，「リフレッシュのため（81.6%）」，「ストレスの解消（79.0%）」，「暇つぶしのため（79.0%）」であり，「かつこいいから（13.1%）」，「ダイエットのため（7.9%）」を理由として挙げる者は少なかった（図 3）。

6) 喫煙の健康被害への意識

喫煙は「自分自身の健康に対して確実に有害である」と回答した学生は 82.6%，「周囲の人の健康に対して確実に有害である」と回答した学生は 86.6%であった。自分自身への健康被害に関しては差がみられなかったが，周囲の人の健康被害に対する認識は，喫煙者（71.1%）と非喫煙者（91.9%）との間に有意差が認められた（ $p<0.01$ ）。喫煙者に禁煙する理由を，あるいは非喫煙者に喫煙しない理由を尋ねたところ，「健康を守るため」，「何らかの病気の症状のため」，「周囲の人に不快感与えないため」，「患者に対して良い手本となる