

を自覚症状あり群、「ない」と答えた者を自覚症状なし群と分類し、唾液湿潤度について比較検討した。

表2 各自覚症状の有無における唾液湿潤度の比較について

| | 自覚あり群 | n | 自覚なし群 | n | t値 | |
|-----------|---------|-----|---------|-----|------|-----|
| 口腔乾燥感 | 1.9±1.9 | 100 | 2.7±2.4 | 68 | -2.3 | * |
| 乾き物が噛みにくい | 1.8±1.5 | 28 | 2.3±2.3 | 140 | -1.1 | n.s |
| 飲み込みにくい | 1.8±1.8 | 23 | 2.3±2.2 | 145 | -1.6 | n.s |
| 味がおかしい | 2.7±2.8 | 27 | 2.1±2.0 | 141 | 1.3 | n.s |

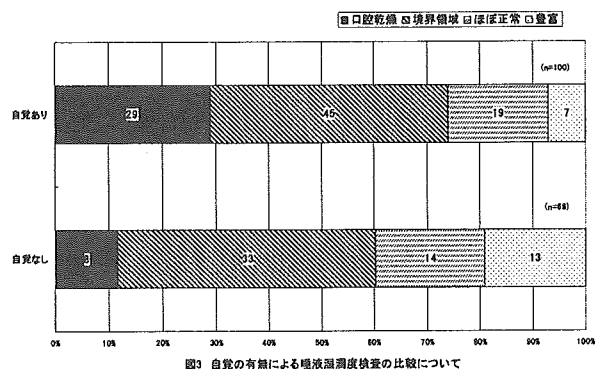
* p<0.05

結果は表2の通りで、口腔乾燥感について自覚あり群の方が自覚なし群に比べ湿潤度が有意に低かった。

口腔乾燥感に加え、さらに唾液湿潤度によって口腔乾燥・境界領域・ほぼ正常・豊富に分類した。

度数分布では、口腔乾燥感における自覚症状あり群100名のうち、唾液湿潤度が口腔乾燥レベルにあった者が29名(29%)、境界領域レベルの者が45名(45%)、ほぼ正常レベルの者が19名(19%)、豊富レベルの者が7名(7%)であった。

一方、自覚症状なし群68名の中で、口腔内が口腔乾燥レベルにあった者は8名(12%)、境界領域レベルの者が33名(49%)、ほぼ正常レベルの者が14名(20%)、豊富レベルの者が13名(19%)であった(図3)。



同様に、口腔乾燥自覚評価票の中で食機能に関連する「乾き物が噛みにくい」、「飲み込みにくい」、「味がおかしい」の質問項目についても比較検討したが統計的に有意な差は認められなかった(表2)。

口腔乾燥感の有無によって心理的因子であるCES-Dに違いがみられるかどうか検討した。

結果、口腔乾燥感において自覚症状あり群は、自覚なし群に比べCES-Dの得点が有意に高かった(表3)。

CES-Dの得点をcut-off pointによって正常対照群と気分障害群とに分類し、口腔乾燥感との関連を検討した。

口腔乾燥感における自覚症状あり群100名のうち、正常対照群は78名(78%)、気分障害群が22名(22%)であった。自覚症状なし群68名のうち正常対照群は61名(90%)、気分障害群が7名(10%)であった。

「乾き物が噛みにくい」においても、自覚症状あり群は自覚症状なし群に比べ、CES-Dの得点が有意に高かった(表3)。

「乾き物が噛みにくい」における自覚症状あり群28名のうち、正常対照群は21名(75%)、気分障害群が7名(25%)であった。自覚症状なし群140名のうち、正常対照群は118名(84%)、気分障害群が22名(16%)であった。

「飲み込みにくい」でも、自覚症状あり群は自覚症状なし群に比べ、CES-Dの得点が有意に高かった(表3)。

「飲み込みにくい」では、自覚症状あり群23名のうち、正常対照群は14名(61%)、気分障害群は9名(39%)であった。自覚症状なし群145名のうち、正常対照群は125名(86%)、気分障害群が20名(14%)であった。

「味がおかしい」でも、自覚症状あり群は自覚症状なし群に比べ、有意にCES-Dの得点が高かった(表3)。

「味がおかしい」では、自覚症状あり群27名のうち、正常対照群は19名(70%)、気分障害群が8名(30%)であった。自覚症状なし群141名のうち、正常対照群は120名(85%)、気分障害群が21名(15%)であった。

表3 各自覚症状の有無におけるCES-Dの比較について

| | 自覚あり群 | n | 自覚なし群 | n | t値 | |
|-----------|-----------|-----|---------|-----|------|----|
| 口腔乾燥感 | 9.8±8.7 | 100 | 7.1±5.8 | 68 | -2.4 | * |
| 乾き物が噛みにくい | 13.3±9.7 | 28 | 7.8±7.0 | 140 | 3.5 | ** |
| 飲み込みにくい | 14.7±12.1 | 23 | 7.8±8.4 | 145 | 2.7 | * |
| 味がおかしい | 12.9±10.5 | 27 | 7.9±8.9 | 141 | 2.4 | * |

** p<0.01 * p<0.05

口腔乾燥感における自覚の有無によって、CES-Dの下位項目を比較検討した。

「普段は何でもないことがわずらわしい」、「ゆううつだ」、「何か恐ろしい気持ちがする」、「ふだんより口数が少ない。口が重い」の項目に

において、自覚症状あり群の方が自覚症状なし群より有意に得点が高かった。

「乾き物が噛みにくい」では「ゆううつだ」、「過去のことについてくよくよ考える」において、自覚症状あり群の方が自覚症状なし群より有意に得点が高かった。

「飲み込みにくい」では、「普段は何でもないことがわずらわしい」、「一人ぼっちでさびしい」において、自覚症状あり群の方が自覚症状なし群より有意に得点が高かった。また、「他の人と同じ程度には、能力があると思う」、「毎日が楽しい」についても有意に得点が高かったが、いずれも逆転項目であるため、意味は反対となる。

「味がおかしい」では、「普段は何でもないことがわずらわしい」、「食べたくない。食欲が落ちた」、「一人ぼっちでさびしい」において、自覚症状あり群の方が自覚症状なし群より有意に得点が高かった。

最後に、年齢、性別、疾患の有無、薬の服用、および口腔乾燥感、食機能にまつわる三項目、唾液湿潤度によって気分障害群の予測が可能かどうか判別分析を行った。

これらの項目の中で気分障害ともっとも強く関連しているのは「飲み込みにくい」で、次いで口腔乾燥感、疾患の有無、「味がおかしい」であった。

年齢、性別、薬の服用、唾液湿潤度「乾き物が噛みにくい」は、それほど気分障害には関わっていないかった（表4）。

表4 標準化された正準判別係数

| | |
|-----------|-------|
| 年齢 | -0.16 |
| 性別 | 0.17 |
| 疾患の有無 | 0.28 |
| 薬の服用 | 0.08 |
| 口腔乾燥感 | 0.54 |
| 唾液湿潤度 | 0.06 |
| 乾き物が噛みにくい | 0.09 |
| 飲み込みにくい | 0.58 |
| 味がおかしい | 0.31 |

関連があると思われる「飲み込みにくい」、口腔乾燥感、疾患の有無、「味がおかしい」を用いて再び判別分析を行った（表5）。

結果、判別関数は $z = 1.32 \times$ 「飲み込みにくい」 $+ 0.80 \times$ 疾患の有無 $+ 0.65 \times$ 口腔乾燥感 $+ 0.64 \times$ 「味がおかしい」 $- 1.50$ であった。

表5 標準化された正準判別係数

| | |
|---------|------|
| 疾患の有無 | 0.37 |
| 口腔乾燥感 | 0.54 |
| 飲み込みにくい | 0.58 |
| 味がおかしい | 0.35 |

これによる判別率的中率は、気分障害群を判別する確立は69%で、気分障害群でない者を判別する確立は71%であった（表6）。

表6 判別の的中状況

| 調査結果 | 判別結果 | | 合計 |
|-------|------|-------|-----|
| | 健常群 | 気分障害群 | |
| 健常群 | 99 | 40 | 139 |
| % | 71 | 29 | 100 |
| 気分障害群 | 9 | 20 | 29 |
| % | 31 | 69 | 100 |

D. 考察

老人福祉施設に通う高齢者 168 名（平均年齢 74.9 ± 8.0 歳）を対象に口腔乾燥、食機能、唾液湿潤度、CES-D の調査を行った。

対象者の大半は徒歩ならびに自転車等によって通所しており、日常生活において自立している。身体疾患の有無を尋ねたところ、身体疾患を有していると答えた者は114名と全体の68%に及んだ。

厚生労働省「平成 16 年国民生活基礎調査」によると、罹患の自覚、通院、生活への影響が出ている70歳以上の男性は約68%、女性は約70%に及ぶとの報告がある。

本調査では身体疾患の有無のみに限ったものではあったが、全国調査とほぼ同等であったと言える。

義歯装着状況については、上顎が「自分の歯」である者が49名（29%）、「局部床義歯」が58名（35%）、「総義歯」は59名（35%）、「歯も義歯もない」者が2名（1%）であった。

同様に、下顎については、「自分の歯」である者が63名（37%）、「局部床義歯」が62名（37%）、「総入れ総義歯」は42名（25%）、「歯も義歯もない」者が1名（1%）であった。

服薬については、何らかの薬を服用している者

が108名(64%)であった。

服薬がもたらす口腔乾燥については、これまでさまざまな報告¹⁰⁾がなされてきている。

通常、投薬は単薬で行われることは少なく、多剤服薬が中心となる。したがって、そこにはさまざまな因子が関係してくるため、なかなか一つの結論は見出せない状況にあると言える。

また、生活習慣として「飲酒」と「喫煙」を取り上げた。

飲酒については「飲まない」が102名(61%)、「ときどき飲む」が24名(14%)、「週に数日飲む」が14名(8%)、「ほぼ毎日飲む」が27名(16%)であった(欠損値1)。

喫煙については、「吸わない」と答えた者が155名(92%)で、「吸う」は13名(8%)であった。

厚生労働省「平成14年国民栄養調査」によると、70歳以上の高齢者で飲酒習慣のある者は20.2%であった。同様に、喫煙については喫煙習慣者が13.5%であった。

日ごろから自分の健康について気をつけていることがあるかどうか尋ねたところ、161名(96%)の人々が「ある」と答えていた。

今回の調査では、喫煙習慣、飲酒習慣ともに全国の数より低いものであった。ここには、本調査対象の健康への意識の高さが関わっているものと思われる。

口腔乾燥自覚評価票による結果を図1に示す。口腔乾燥感の有無を調べる「口が渇く」において「ある」と答えた者は55名(33%)、「ときどき」と答えた者が45名(27%)、「ない」と答えた者が68名(40%)で、「ときどき」を含めると口腔乾燥感を自覚している者が約6割を占めた。

先に行われた柿木らの調査(2002年)によると¹¹⁾、65歳以上の高齢者では常に口腔乾燥感を自覚している者が31.1%、ときどき自覚している者が23.8%、合わせて(口腔乾燥感の自覚あり群)54.9%と、今回の調査とほぼ同様の結果であった。

また、食機能と関連のある項目について柿木らは「乾き物が噛みにくい」が、「ある」34.0%、「ときどき」13.6%で合わせて50.6%。

「飲み込みにくい」は、「ある」18.8%、「ときどき」19.0%で合わせて37.8%。

「味がおかしい(味覚の異常)」では、「ある」15.8%、「ときどき」16.0%で合わせて31.8%と

報告している。

今回の調査結果は、柿木らの調査報告をいずれも大きく下回っていた。

米山らは要介護者が口腔乾燥感を持っていること、中でも、乾燥した食品が食べづらく、味覚障害を起こしている可能性が高いと指摘している¹²⁾。

その他、「夜間に水を飲む」、「口で息をする」、「口臭がある」、「目が乾く」、「義歯で傷つく」では、柿木らの報告とほぼ同様の値であった。

「ネバネバする(唾液の粘性)」においては、今回の調査結果の方が大きく下回っているのに対し、「水をよく飲む」、「汗をかく」ではいずれも今回の調査の方が大きく上回っていた。

これらの結果は、今回の対象者がADL能力、活動性共に高く、代謝等の身体的状態が比較的良好ということを物語っているものと思われる。

唾液湿潤度の測定結果では、「口腔乾燥レベル」が37名(22%)、「境界領域レベル」が78名(46%)であり、これらを合わせると約7割近い人が唾液湿潤度において問題を抱えている可能性があると言える(図2)。

2002年、健康成人を対象に行った調査と比べると¹³⁾、健康成人では「口腔乾燥レベル」、「境界領域レベル」合わせて62%であり、高齢者対象の今回の調査の方が若干上回っていた。

口腔乾燥にまつわる口腔内の疾患および全身疾患は多く³⁾、特に、唾液分泌量の低下は、口腔乾燥だけでなく、粘性亢進など細菌学的変化、口腔粘膜の変化、機能障害をもたらす。

すなわち、単にう蝕や歯周炎の問題ばかりではなく、カンジタ症や口内炎、舌痛症を増加させるとともに、嚥下障害により肺炎発症や栄養不良、口腔内の免疫力低下等の全身状態悪化の引き金になる危険性も孕んでいる³⁾。高齢者にとってこれらの問題は生命に関わる問題であり、早急な対策の検討が望まれる。

CES-Dにおいては、cut-off pointを超えない正常対照群が139名(83%)、超える気分障害群が29名(17%)であった。

うつ病は、50歳前後から増え始め、70歳代前半がそのピークとなる老年期に多い疾患である。

最近の国内外の調査では、高齢者うつ病の有病率はmajor depression minor depressionを合わ

せて13%程度と考えられており¹⁴⁾、今回の調査結果もほぼ同等と言える。

口腔乾燥感の自覚と唾液湿潤度との関連を検討した。

口腔乾燥感における自覚あり群は自覚なし群に比べ湿潤度が有意に低かった。

2002年に行われた柿木らの口腔乾燥症の診断基準に関する調査研究において、唾液湿潤度検査紙の値は口腔乾燥感の自覚症状との関連がすでに認められており、そればかりではなく臨床診断基準との関連も立証され、口腔乾燥状態の客観的評価として有効なものであることが報告されている¹¹⁾。

今回は、それぞれの群を唾液湿潤度によって口腔乾燥・境界領域・ほぼ正常・豊富に分類した。

口腔乾燥感における自覚症状あり群100名のうち、唾液湿潤度が口腔乾燥レベルにあった者が29名(29%)、境界領域レベルの者が45名(45%)、ほぼ正常レベルの者が19名(19%)、豊富レベルの者が7名(7%)であった。

一方、自覚症状なし群68名の中で、口腔内が口腔乾燥レベルにあった者は8名(12%)、境界領域レベルの者が33名(49%)、ほぼ正常レベルの者が14名(20%)、豊富レベルの者が13名(19%)であった(図3)。

唾液湿潤度がほぼ正常、もしくは豊富群にあるにもかかわらず、口腔乾燥感を訴える者(自覚あり群)が26名(26%)存在した。

先に行われた一般健康成人の調査より、これらの者には心理的因子が大きく影響していると考えられる¹³⁾。

また、逆に唾液湿潤度は境界領域以下であるにもかかわらず、口腔乾燥感の自覚がない者が41名(61%)と半数を超えていた。

口腔乾燥は、単に口腔内環境の問題だけにとどまらず、全身疾患、しいては生命の危機にも発展しかけない重大な問題であることはすでに述べた通りである。

疾患の予防、治療には、主訴たる自覚症状の存在が非常に大きな意味を持っている。

高齢者の場合、この自覚症状が乏しく、自分の口腔内環境を的確に捉え切れていない人が多いと言える。

稲永によると高齢者は高齢化により乾燥感に

対する感受性が低下し、脱水状態になりやすいことを警告している¹⁵⁾。

今後、予防活動の充実化などこれらの人々への対応が必要であると考えられる。

食機能に関連する「乾き物が噛みにくい」、「飲み込みにくい」、「味がおかしい」の質問項目についても唾液湿潤度との関係を比較検討したが、特に統計的に有意な差は認められなかった(表2)。

口腔乾燥感における自覚症状の有無によって心理的因子であるCES-Dに違いがみられるかどうか検討したところ、自覚症状あり群は、自覚なし群に比べCES-Dの得点が有意に高かった(表3)。

永井らは歯科心身症と口腔乾燥との関連を取り上げ、歯科心身症患者においては口腔乾燥などの口腔内環境の変化を念頭に心気症、軽症うつ病などに注意を払う必要があると述べている¹⁶⁾。

また、平本らは口腔乾燥などを症状とするシェーグレン症候群患者の治療では不安や抑うつへの対応が重要であることを示唆している¹⁷⁾。

食機能に関連のある「乾き物が噛みにくい」、「飲み込みにくい」、「味がおかしい」の各項目についても群分けを行ない、CES-Dの比較検討を行った。

結果、いずれの項目においても自覚症状あり群は自覚症状なし群に比べ、CES-Dの得点が有意に高かった(表3)。

食機能、中でも味覚の異常と抑うつとの関連は以前より取り上げられているところである。

角田らは舌痛と味覚異常を主訴としたケースが抑うつ傾向を呈し、精神科治療によって改善されたことから、味覚障害を主訴としてうつ病患者が歯科を受診する可能性があることを論じている¹⁸⁾。

同様に伊藤らは口腔内の塩辛さを自覚し、口腔乾燥感が出現したケースがうつ病を発症していることに気づき、精神科治療によって塩辛さなどの改善をみた症例を報告している¹⁹⁾。

これまで、口腔乾燥感、味覚異常と抑うつとの関連性は数々報告されているが、今回、それ以外にも「乾き物が噛みにくい」、「飲み込みにくい」などの食機能においても抑うつとの関連性の存在が示唆された。

最後に、口腔乾燥感、食機能に関する自覚症状等によって、気分障害群の予測が可能かどうか判

別分析を行った。

関連があると思われる「飲み込みにくい」、口腔乾燥感、疾患の有無、「味がおかしい」を用いて再び判別分析を行った。結果、判別関数は $z = 1.32 \times$ 「飲み込みにくい」 $+0.80 \times$ 疾患の有無 $+0.65 \times$ 口腔乾燥感 $+0.64 \times$ 「味がおかしい」 -1.50 であった。

これによる判別率の中率は、気分障害群を判別する確立は 69% で、気分障害群でない者を判別する確立は 71% であった (表 5)。

すなわち、「飲み込みにくい」、疾患の有無、口腔乾燥感、「味がおかしい (味覚の異常)」等の項目を把握することで、抑うつなど心理的な問題を約 70% の確立でスクリーニングできる可能性が示唆された。

E. 結論

高齢者における口腔乾燥感ならびに食機能と唾液湿潤度、心理的因子との関係を精査すべく、老人福祉施設に通う高齢者 168 名を対象に調査を行った。

身体疾患は、全体の 68% の者が有していると答えていた。

薬の服用については、何らかの薬を服用している者が 108 名 (64%) であった。

口腔乾燥感の有無を調べる「口が渇く」において「ある」および「ときどき」と口腔乾燥感のある者が約 6 割を占めた。

食機能と関連のある項目については、「乾き物が噛みにくい」が、「ある」、「ときどき」を含め 28 名 (17%)、同様に「飲み込みにくい」では、23 名 (14%)、「味がおかしい (味覚の異常)」では、28 名 (17%) であった。

唾液湿潤度の測定結果では、「口腔乾燥レベル」が 37 名 (22%)、「境界領域レベル」が 78 名 (46%) であり、これらを合わせると 68% で約 7 割近い人が唾液湿潤度において問題を抱えている可能性がある。

CES-D においては、cut-off point の 16 点を超えない正常対照群が 139 名 (83%)、16 点を超える気分障害群が 29 名 (17%) であった。

口腔乾燥感の自覚と唾液湿潤度との関連を検討した結果、口腔乾燥感における自覚あり群は自覚なし群に比べ湿潤度が有意に低かった。

口腔乾燥における自覚あり群、自覚なし群を唾液湿潤度によって口腔乾燥・境界領域・ほぼ正常・豊富に分類したところ、口腔乾燥感の自覚がある (自覚症状あり群) にもかかわらず、唾液湿潤度がほぼ正常、もしくは豊富群にある者が 26 名 (26%) 存在した。

また、逆に唾液湿潤度は境界領域以下であるにもかかわらず、口腔乾燥感の自覚がない者が 41 名 (61%) と半数を超えていた。

高齢者の場合、自分の口腔内環境を的確に捉えることは難しいことがあらためて示唆された。

今後、予防活動の充実化など、これらの人々への対応が必要であると考えられる。

口腔乾燥感、「乾き物が噛みにくい」、「飲み込みにくい」、「味がおかしい」において自覚あり群、自覚なし群に分類し、CES-D について比較検討を行った。

結果、いずれの項目においても自覚症状あり群は自覚症状なし群に比べ、CES-D の得点が有意に高かった (表 3)。

これまで、口腔乾燥感、味覚異常と抑うつとの関連は数々報告されているが、今回、それ以外にも「乾き物が噛みにくい」、「飲み込みにくい」等の食機能においても抑うつとの関連性が示唆された。

口腔乾燥感、食機能に関する自覚症状等によって気分障害群の予測が可能かどうか判別分析を行ったところ、「飲み込みにくい」、疾患の有無、口腔乾燥感、「味がおかしい (味覚の異常)」等を把握することで、抑うつ等の心理的問題を約 70% の確立でスクリーニングできる可能性が示唆された。

(参考文献)

- 1) 與古田孝夫: 日常生活における長寿とメンタルヘルス. 成人病と生活習慣病, 35(7):750-754, 2005.
- 2) 岸本悦央: 口腔乾燥症の原因, 歯界展望 100(1):27-32, 2002.
- 3) 柿木保明: 高齢者の口腔乾燥症と唾液物性に関する研究. 平成 14 年度厚生科学研究費補助金・長寿科学総合研究事業高齢者の口腔乾燥症と唾液物性に関する研究報告書, 1-9, 2003.
- 4) 柿木保明: 口腔乾燥症の診断・治療・ケア. 歯界

- 展望, 100:366-376, 2002.
- 5) 島悟, 鹿野達男, 他:新しい抑うつ性自己評価尺度について. 精神医学, 27:717-723, 1985.
- 6) 柿木保明, 石川正夫, 他:口腔乾燥度の評価に関する研究「新しく開発した唾液測定具を用いた評価法について」. 口腔衛生学会雑誌, 51:498-499, 2001.
- 7) 渋谷耕司:新しい計測器・薬剤唾液湿潤度検査紙. 歯界展望, 100:405, 2002.
- 8) Radloff LS:The CES-D Scale :a self-report depression scale for research in the general population. Appl Psychol Measurement, 1:385-401, 1977.
- 9) 柿木保明, 中村誠司, 他:唾液検査の実際と診断のポイント. 歯界展望, 103:47-52, 2004.
- 10) 寺岡加代:口腔乾燥と全身に関する最近の研究から. 歯界展望, 100:401-403, 2002.
- 11) 柿木保明, 岸本悦央, 他:口腔乾燥症の自覚症状と口腔乾燥度に関する調査研究. 平成14年度厚生科学研究費補助金・長寿科学総合研究事業高齢者の口腔乾燥症と唾液物性に関する研究報告書, 22-36, 2003.
- 12) 米山武義:要介護者における口腔乾燥に対する訴えについて. 平成14年度厚生科学研究費補助金・長寿科学総合研究事業高齢者の口腔乾燥症と唾液物性に関する研究報告書, 42-44, 2003.
- 13) 松坂利之, 井上裕之, 他:口腔乾燥における心理的因子に関する研究. 障害者歯科, 26(2):180-188, 2005.
- 14) 加藤博秀, 笠原洋勇, 他:気分障害と認知症の疫学. 精神科治療学, 20(9):881-886, 2005.
- 15) 稲永清敏:加齢による体液恒常性の変化と口腔乾燥症とのかかわり, 100(1):33-38, 2002.
- 16) 永井哲夫, 角田博之, 他:歯科からみた高齢者の異常感覚. 老年精神医学, 15(3):306-311, 2004.
- 17) 平本哲哉, 芦原睦, 他:シェーグレン症候群における抑うつと不安の検討. 中部リウマチ, 36(1):24-25, 2005.
- 18) 角田博之, 永井哲夫, 他:味覚異常を主訴に来科したうつ病症例. 日本歯科心身医学会, 16(1):71-73, 2001.
- 19) 伊藤幹子, 近藤三男, 他:パロキセチンが奏効したと考えられた味覚障害の1例. Pharma Medica, 22(8):181-184, 2004.

研究協力者 宮崎秀夫 新潟大学大学院医歯学総合研究科
口腔健康科学講座

研究要旨

1927 年生まれ (76 歳) の男女 355 名を対象に、唾液の機能異常と歯周病の関連を明らかにする目的で調査研究を実施した。歯周組織診査は、TPS PROBE[®] (Viva Care 社) を使用し、歯肉出血 (BOP) の有無、歯石沈着 (CAL) の有無、歯周ポケット (PD) ならびにアタッチメントロス (LA) を 1mm 単位で診査、記録した。また 1g のパラフィンワックスを 3 分間噛み、全唾液を回収後、1 分当たりの刺激唾液量 (SFR) をもとめた。次に、ネバメーター[™] (IMI-001, 石川鉄工所) を用い、採取直後の各唾液について曳糸性 (粘稠度 mm) を測定した。

その結果、基本属性による唾液流出量と曳糸性では、男女間に有意な差は認められなかった。常用薬の数、基礎疾患の数においても有意差は認められなかった。

唾液曳糸性 (SS) の大小について各歯周健康パラメーターをみてみると、平均 AL にのみ有意差が認められた。

平均 PD、PD 4 mm 以上の部位の割合、平均 AL、AL 4 mm 以上の部位の割合で曳糸性が大きく、かつ、刺激唾液流出量が少ない群は最も悪い歯周健康状態であることが示された。

4 mm 以上の PD が高位 20% に入る対象者を特定する要因としては、SFR 0.7 ml/min. 未満で SS 2 mm を超える者はオッズ比 3.84 を示した。また、喫煙者は非喫煙者に対して 5.08 倍、4 mm 以上のポケット所有リスクがあった。同様に、歯間部清掃をしない者は 2.12 倍、BOP 部位が 19.4% 以上ある者は 5.20 倍、4 mm 以上のポケット所有リスクがあった。

以上のことより、高齢者では、刺激唾液流出量が少なく曳糸性が高い唾液性状は歯周病のハイリスクあることが示唆された。

A. 研究の目的

高齢者にとって、加齢による唾液流出量の減少傾向は一般的である。シェーグレン症候群¹⁾や糖尿病²⁾など全身疾患に起因するケースもあるが、服用薬の副作用によるケースの方が多³⁾といわれている。唾液は口腔機能の維持に重要な役割を果たしているため、流出量の減少は正常な口腔健康の保持に多大な影響を与えると考えられる。事実、唾液流出量の減少は根面う蝕の発生に主な原因の一つと報告されている⁴⁾。しかしながら、唾液の機能

異常と歯周病の関係についてはほとんど情報が認められない⁵⁾。本研究の目的は、唾液流出量と唾液曳糸性 (粘稠性) が歯周病と関連するかどうかを調べることである。

B. 研究方法

研究対象者は、家庭で通常の生活を送っている 1927 年生まれ (76 歳) の男女 355 名である。本対象者は新潟市高齢者コホート集団 (1998 年当時 70 歳, 600 名)⁶⁾に属し、有歯顎でかつ唾液検査を受け、分析データが完備している者である。

口腔診査は人工照明下にて簡易ベッドを使用して仰臥位で行なった。歯周組織診査は、TPS PROBE[®] (Viva Care 社) を使用し、智歯を含む全ての歯に対して1歯あたり6点(頬舌側に、近心・中央・遠心)について、歯肉出血(BOP)の有無、歯石沈着(CAL)の有無、歯周ポケット(PD)ならびにアタッチメントロス(LA)を1mm単位で診査、記録した。なお、セメント-エナメル境界線が不明瞭や多量の歯石沈着が認められた場合は診査から除外した。4名の診査者は新潟大学医歯学総合病院予防歯科診療室を受診した患者を対象にして診査者間の診断基準の標準化を行なった。診査者間のKappa値はPDで0.79-0.93, LAで0.62-1.00であった。

対象者は1gのパラフィンワックスを3分間噛み、全唾液を回収後、1分当たりの刺激唾液量(SFR)をもとめた。次に、ネバメーターTM (IMI-001, 石川鉄工所)を用い、採取直後の各唾液について曳糸性(粘稠度mm)を測定した。データの解析には、対象者を刺激唾液量0.7 ml/min.未満と0.7 ml/min.以上の2群に、曳糸性は2mm以下と2mmを超える2群にそれぞれ分け、行った。

C.結果

基本属性による唾液流出量と曳糸性のデータについて、男(188名)はそれぞれ 1.62 ± 0.93 ml/min., 1.95 ± 0.42 mm, 女(167名)は 1.23 ± 0.65 ml/min., 1.87 ± 0.31 mmであり、有意な性差は認められなかった。常用薬の数を0, 1~4, 5種類以上の3群でみると、それぞれ、 1.50 ± 0.83 ml/min., 1.92 ± 0.35 mm, 1.40 ± 0.80 ml/min., 1.90 ± 0.37 mm, 1.38 ± 0.87 ml/min., 1.91 ± 0.42 mmと有意差はなかった。同じく、基礎疾患の数0, 1~2, 3~5の3群で比較すると、それぞれ、 1.54 ± 0.84 ml/min., 1.92 ± 0.39 mm, 1.41 ± 0.84 ml/min., 1.92 ± 0.38 mm, 1.43 ± 0.76 ml/min., 1.86 ± 0.27 mmであり、3群間

に有意差は認められなかった。

歯周疾患の有病状況について、歯周ポケットの深さ(PD)の平均値、PD 4mm以上の部位の割合、PD 6mm以上の部位の割合、アタッチメントロス(AL)の平均値、AL 4mm以上の部位の割合、AL 6mm以上の部位の割合、プロービング後の出血(BOP)の割合をパラメーターとして男女間の比較を行うと、BOPの割合以外は男が女より有意な高値($p < 0.01$)を示した。現在歯数により対象者を10本未満、10~19、20本以上の3群で比較すると、残存歯数が少ない対象者ほど歯周健康状態は悪かった($p < 0.05$)。同じく、喫煙者はBOPの割合以外、全ての歯周健康パラメーターで悪い結果を認めた($p < 0.05$)。歯間部清掃を行う対象者は全ての歯周健康パラメーターで、しない者より有意な低値($p < 0.01$)を示した。1年以内に歯科医へかかった対象者はAL 4mm以上の部位の割合とBOPの割合で有意な低値($p < 0.05$)を認めた。

刺激唾液流出量(SFR)の多寡による歯周健康パラメーターの各値を図1-1~1-3に示す。平均PD、PD 4mm以上の部位の割合、PD 6mm以上の部位の割合の平均AL、AL 4mm以上の部位の割合、AL 6mm以上の部位の割合、BOPの割合のいずれも、SFR 0.7 ml/min.未満と0.7 ml/min.以上の間に有意差は認められなかった。

唾液曳糸性(SS)の大小による歯周健康パラメーターの各値を図2-1~2-3に示す。平均ALにのみ有意差($p < 0.05$)が認められ、SSが2mmを超える対象者(AL=3.5mm)は2mm未満の者(AL=3.2mm)より大きな値を示した。しかしながら、他のパラメーターでは有意差がなかった。

唾液曳糸性(SS)の大小で2群に分け、それぞれをさらに刺激唾液流出量(SFR)の多寡で2群に分けて集計を行った結果を図3-1~2-5に示す。分散分析の結果から、平均PD、PD 4mm以上の部位の割

合、平均 AL, AL 4 mm 以上の部位の割合で曳糸性が大きく、かつ、刺激唾液流出量が少ない群は最も悪い歯周健康状態であることが示された。

4 mm 以上の PD が高位 20%に入る対象者を特定する要因を検出するためのロジスティック回帰分析結果を図 4 に示す。SFR 0.7 ml/min. 以上で SS 2 mm 未満の者を基準にすると、SFR 0.7 ml/min. 未満で SS 2 mm を超える者はオッズ比 3.84 ($p<0.05$) を示した。また、喫煙者は非喫煙者に対して 5.08 倍、4 mm 以上のポケット所有リスクがあった ($p<0.01$)。同様に、歯間部清掃をしない者は 2.12 倍 ($p<0.05$)、BOP 部位が 19.4% 以上ある者は 5.20 倍 ($p<0.0001$) 4 mm 以上のポケット所有リスクがあった。

D. 結論

高齢者では、刺激唾液流出量が少なく曳糸性が高い唾液性状は歯周病のハイリスクであることが示唆された。

引用文献

- 1) Koseki M, Maki Y, Matsukubo T, Ohashi Y, Tsubota K: Salivary flow and its relationship to oral signs and symptoms in patients with dry eyes. *Oral Dis*, 10: 75-80, 2004.
- 2) Chavez EM, Borrell LN, Taylor GW, Ship JA: A longitudinal analysis of salivary flow in control subjects and older adults with type 2 diabetes. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, and Endodont*, 91: 166-173, 2001.
- 3) Närhi TO, Meurman JH, Ainamo A, Nevalainen JM, Schmidt-Kaunisaho KG, Siukosaari P, Valvanne J, Erkinjuntti T, Tilvis R, Makila E: Association between salivary flow rate and the use of systemic medication among 76-, 81-, and 86-year-old inhabitants in Helsinki, Finland. *J Dent*

Res, 71: 1875-1880, 1992.

- 4) Pow EH, McMillan AS, Leung WK, Kwong DL, Wong MC: Oral health condition in southern Chinese after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma: extent and nature of the problem. *Oral Dis*. 9: 196-202, 2003.
- 5) Crow HC, Ship JA: Are gingival and periodontal conditions related to salivary gland flow rates in healthy individuals? *J Amer Dent Ass*, 126: 1514-1520, 1995.
- 6) Hiroto T, Yoshihara A, Andoh Y, Miyazaki H: Longitudinal study on periodontal conditions in healthy elderly people in Japan. *Community Dent Oral Epidemiol*, 30: 409-417, 2002.

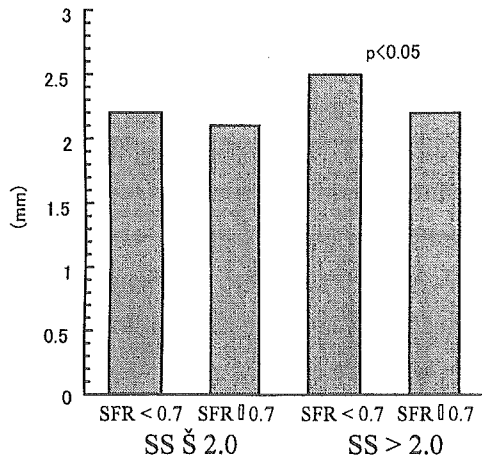


図3-1 唾液曳糸性と刺激唾液流出量の組み合わせによる平均PD (mm) の比較

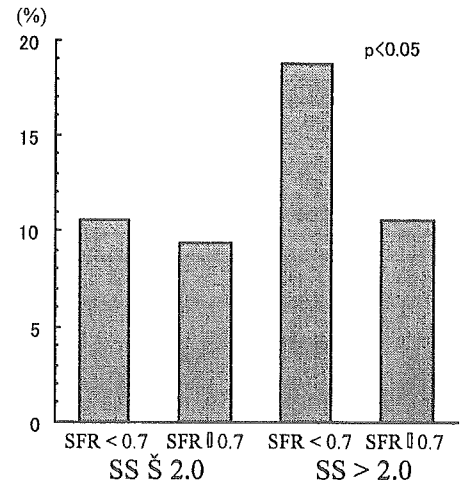


図3-2 唾液曳糸性と刺激唾液流出量の組み合わせによるPD 4+ mm 部位の割合 (%)の比較

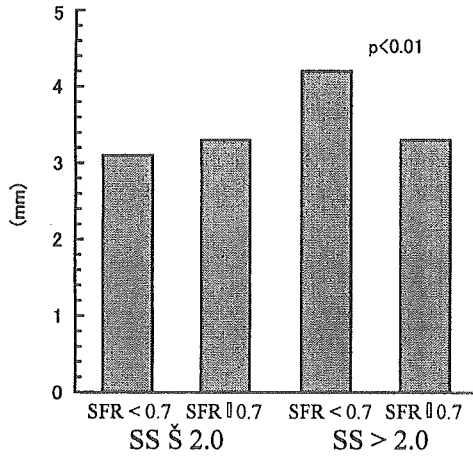


図3-3 唾液曳糸性と刺激唾液流出量の組み合わせによる平均AL (mm) の比較

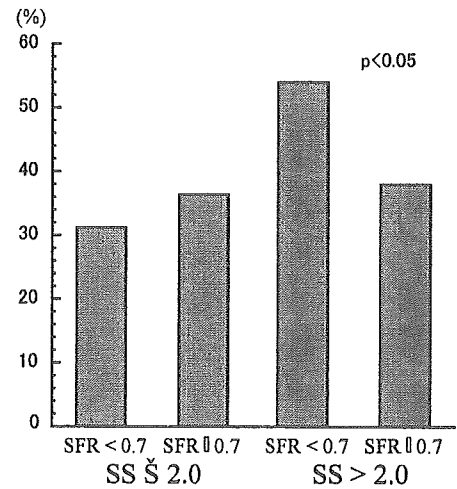


図3-4 唾液曳糸性と刺激唾液流出量の組み合わせによるAL 4+ mm 部位の割合 (%)の比較

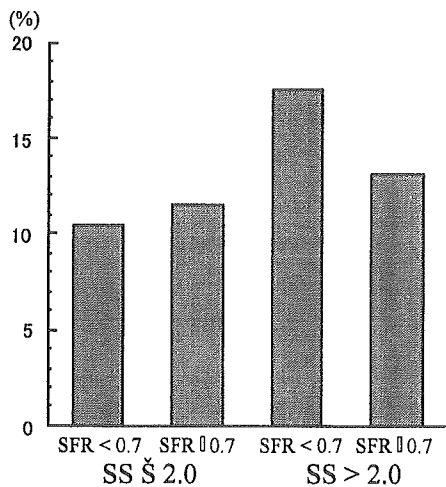


図3-5 唾液曳糸性と刺激唾液流出量の組み合わせによるBOPの割合 (%)の比較

ヒアルロン酸の *Candida albicans* に対する増殖抑制効果について

研究分担者 西原 達次 九州歯科大学感染分子生物学分野
 研究協力者 坂井 明順 九州歯科大学保険医療フロンティア科学分野

研究要旨

Candida albicans は日和見感染病因菌として知らせており、口腔粘膜に感染して口腔カンジダ症を引き起こす。近年、口腔カンジダ症が要介護者など高齢者や抵抗力の低下した人の口腔ケアを行ううえで大きな問題となっている。我々は、細胞膜表層の高分子ヒアルロン酸が *C. albicans* の増殖を抑制する効果について検討したところ、上皮細胞膜表層のヒアルロン酸が *C. albicans* の増殖抑制に関与していることが明らかとなった。今回の結果から、口腔乾燥症の治療や口腔ケアの補助剤として用いられているヒアルロン酸が臨床的に有効であることが示唆された。

A. 研究目的

ここ最近の *Candida albicans* による感染症患者数は増加傾向にあり、その中でも高齢者や要介護者においては特にその傾向が強く、介護や医療の現場においても大きな問題となっている。しかしながら、現在口腔粘膜における *C. albicans* に対する感染防御機構に関する知見は少なく、局所免疫のほか上皮細胞膜上の糖鎖が何らかの増殖抑制効果に関しているという報告に止まっており、今後さらなる研究が期待されている。

現在、保湿成分として、特に注目を浴びているヒアルロン酸は、D-グルコン酸と D-N-アセチルグルコサミンの交互の繰り返しグリコシド結合により連結している多糖類であり、硝子体、関節滑液そして皮膚とヒトのあらゆる部位に存在している。高分子ヒアルロン酸の機能として、いくつかの細菌に対する増殖抑制効果が報告されており、ヒアルロン酸のもつ様々な機能の解明が進んでいる。

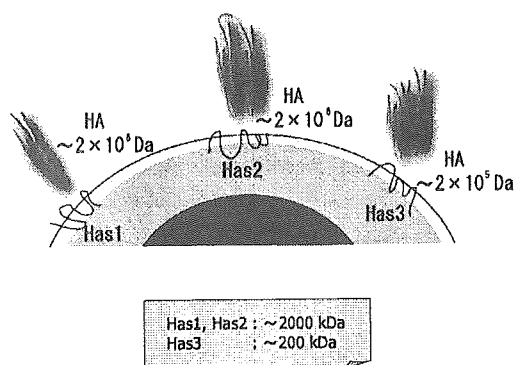


図1 上皮細胞表層のヒアルロン酸

上皮細胞表層のヒアルロン酸合成酵素には Has1, Has2, Has3 という種類があり、Has1 は少量の高分子量ヒアルロン酸を合成し、Has2 は非常に多量の高分子量ヒアルロン酸合成に関る。Has3 は最も合成活性は高いが、低分子量のヒアルロン酸合成に関している。(図1)

今回我々は、*C. albicans* の増殖抑制に対する口腔粘膜上皮細胞の高分子ヒアルロン酸におよぼす作用について検討した。

B. 研究方法

C. albicans ATCC18804 に対してヒアルロン酸 (14 mer, 60 kDa, 250 kDa, 800 kDa, 2000 kDa) を 0.1, 1.0 mg/ml 添加した PG broth を用いて、室温で 12 時間培養を行い、吸光度 OD₆₂₀ にて濁度を計測した。次に、歯肉粘膜細胞株 KB 細胞および、マウス歯肉上皮細胞株 GE1 細胞を用いた共培養系を確立し、 5×10^5 cells/ml の KB 細胞 (E) を *C. albicans* (T) に対して細胞数比 E:T が各々 20:1, 40:1, 80:1 になるように調製した。9 時間共培養後、菌液を回収して 24 時間培養した後、CFU を測定した。さらに、 5×10^5 cells/ml の KB 細胞に hyaluronidase を 10, 20, 100 units/ml の濃度で反応させた後、*C. albicans* を細胞に対して 1:80 になるように添加した。その後、37°C、5% CO₂ incubater にて 9 時間共培養後、菌液を回収して 24 時間培養して、CFU を測定した。また、ヒアルロン酸合成酵素 HAS1, HAS2, HAS3 をそれぞれ強発現した COS-7 細胞に *C. albicans* を添加し、

37°C、5% CO₂ incubatorにて9時間共培養後、菌液を回収して24時間培養した後、CFUを測定した。

C. 研究結果

(i) ヒアルロン酸による *C. albicans* に対する増殖抑制効果

ヒアルロン酸 (14 mer、60 kDa、250 kDa、800 kDa、2000 kDa) による *C. albicans* に対する増殖抑制効果を図2に示す。

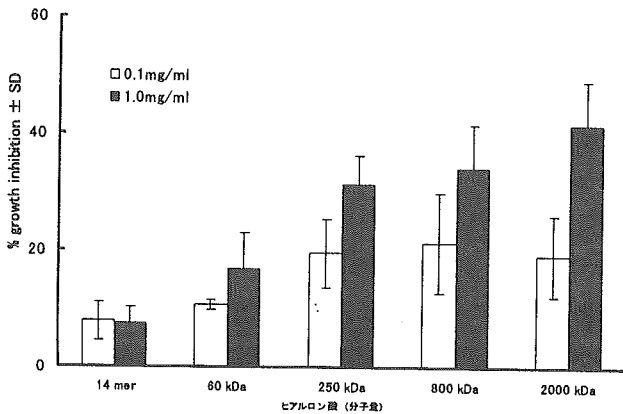


図2 ヒアルロン酸による *C. albicans* に対する増殖抑制効果

今回使用したヒアルロン酸の中で最も高濃度で高分子量 (2000 kDa、1.0 mg/ml) の時約42%の増殖抑制効果が観察された。

(ii) 口腔粘膜細胞による *C. albicans* に対する増殖抑制効果

KB細胞及びGE1細胞による *C. albicans* に対する増殖抑制効果を図3に示す。

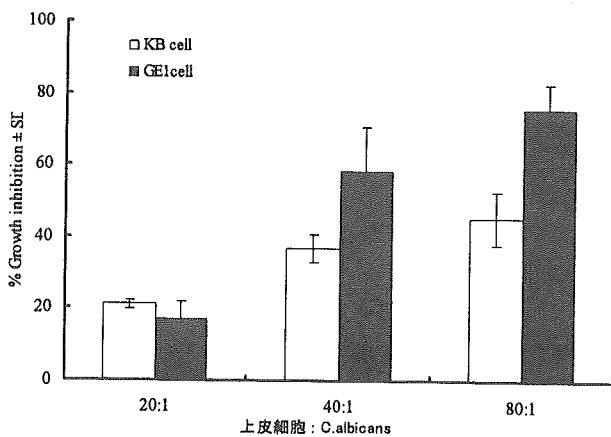


図3 口腔粘膜細胞による *C. albicans* に対する増殖抑制効果

今回用いた粘膜細胞 (KB細胞、GE1細胞) では、*C. albicans* との細胞数比が80:1のとき最も増殖抑制効果が大きかった。(KB細胞:45.2%、GE1細胞:75.5%)

(iii) 口腔粘膜細胞上のヒアルロン酸による *C. albicans* に対する増殖抑制効果

宿主細胞上のヒアルロン酸をhyaluronidaseで処理した結果を図4に示す。

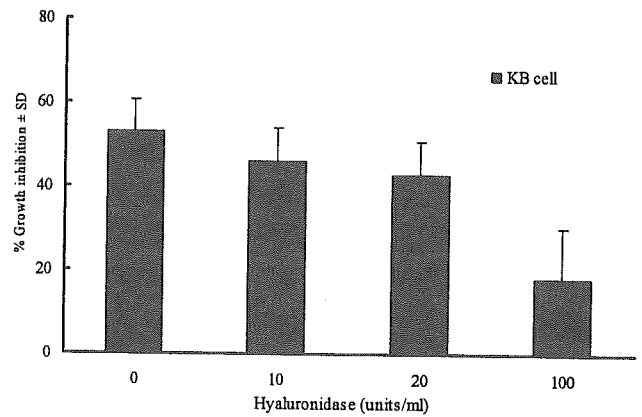


図4 hyaluronidase 処理後の口腔粘膜細胞による *C. albicans* に対する増殖抑制効果

未処理のKB細胞の増殖抑制効果が53.4%であったのに対し、hyaluronidase (100 units/ml) で処理した細胞では増殖抑制効果は18.1%に止まった。

次に、細胞膜上のヒアルロン酸を強発現させた上皮細胞による *C. albicans* に対する増殖抑制効果を図5に示す。

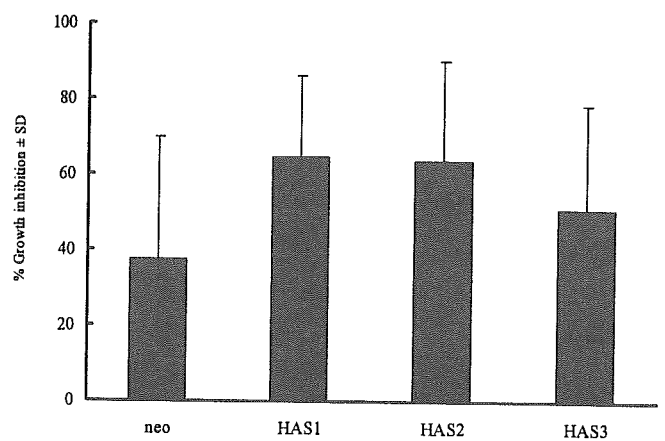


図5 ヒアルロン酸を強発現させた口腔粘膜細胞による *C. albicans* に対する増殖抑制効果

いずれの場合も、ベクターコントロール (neo) と比較して増殖抑制効果の増大が観察された。

(HAS1 : 64.5%、HAS2 : 63.8%、HAS3 : 51.1%、neo : 37.5%)

D. 結論

今回の実験の結果をまとめたものを図6に示す。①高分子ヒアルロン酸は *C. albicans* に対する増殖抑制効果を持っている。②口腔上皮細胞は *C. albicans* に対する増殖抑制効果を持っている。③上皮細胞上のヒアルロン酸を hyaluronidase にて処理すると、上皮細胞の *C. albicans* に対する増殖抑制効果が減少した。④ヒアルロン酸を強発現させた口腔上皮細胞の *C. albicans* に対する増殖抑制効果は増強した。

以上の結果から、*C. albicans* に対する口腔上皮細胞の増殖抑制効果には、細胞膜上のヒアルロン酸が関与していることが強く示唆された。

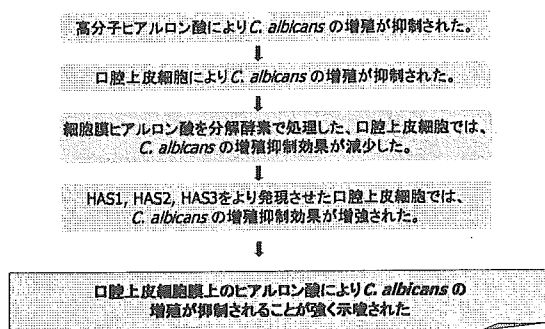


図6 口腔粘膜細胞上のヒアルロン酸による *C. albicans* に対する増殖抑制効果

現在、口腔ケアの分野では、口腔乾燥症に対する人口唾液に変わりヒアルロン酸含有の製品を塗布する治療が行なわれており、このことは口腔カンジダ症の初期予防に十分良い影響を与えていることが示唆される。

参考文献

[1] Pirnazar P, Wolinsky L, Nachnani S *et al.* Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. J Periodontol 1999; 70: 370-374.

[2] Steele C, Leigh J, Swoboda R, Fidel PL.

Growth inhibition of *Candida* by human oral epithelial cells. J Infect Dis 2000; 182: 1479-1485.

[3] Steele C, Leigh J, Swoboda R *et al.* Potential role for a carbohydrate moiety in anti-*Candida* activity of human oral epithelial cells. Infect Immun 2001; 69: 7091-7099.

[4] Itano N, Sawai T, Yoshida M *et al.* Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties. J Biol Chem 1999; 274: 25085-25092.

歯周病細菌が産生する毒素の致死活性発現メカニズムに関する研究

分担研究者 西原 達次 九州歯科大学

健康増進学講座 感染分子生物学分野

研究協力者 河村 太郎 九州歯科大学

健康増進学講座 保健医療フロンティア科学分野

研究要旨

Actinobacillus actinomycetemcomitans は著しい骨吸収を伴った歯周炎の原因菌と考えられているが、主たる病原因子については未だ不明な点を残している。

そこで、今回は、その外毒素の一つである Cytolethal Distending Toxin (CDT) に着目して、その発症メカニズムについて基礎的な研究を行った。

研究方法は、ヒト単球系細胞株 U937 にリコンビナント CDT を作用させ、細胞周期の変化をフローサイトメーターで解析した。また、Hoechst 染色により核の断片化や、ウェスタンブロットにより細胞核膜タンパクである Lamin A の分解を観察することで、アポトーシスを評価した。

その結果、CDT が U937 細胞にアポトーシスおよび G₂/M 期でのアレストを引き起こすことで、歯周病発症の一端を担っていることが明らかとなった。

A. 研究の目的

Actinobacillus actinomycetemcomitans は歯周病細菌と考えられており、その発症は lipopolysaccharide(LPS) などの内毒素によって引き起こされる。そのメカニズムについては、現在までに様々な研究が行われ、明らかにされてきた。一方、本菌は数種類の外毒素を産生する。その一つである Cytolethal Distending Toxin (CDT) については、歯周病の発症に関する報告は少ない。そこで、今回、我々は CDT に着目して、発症メカニズムについての基礎的な研究を行った。

B. 研究対象および方法

ヒト単球系細胞株 U937 にリコンビナント CDT を作用させ、細胞周期の変化をフローサイ

トメーターで解析した。また、Hoechst 染色により核の断片化や、ウェスタンブロットにより細胞核膜タンパクである Lamin A の分解を観察することで、アポトーシスを評価した。

C. 研究結果

リコンビナント CDT 1 μg/ml をヒト単球系細胞株 U937 に添加し、48 時間後に Hoechst 染色を行い蛍光顕微鏡下で細胞を観察したところ、核の断片化が見られる典型的なアポトーシス、及び CDT 特有の細胞の膨化が認められた(図 1)。

同様に、U937 細胞に CDT 1 μg/ml を添加し、フローサイトメーターで細胞周期を解析して経時的な変化をみた(図 2)。培養 12 時間で G₂/M 期の割合が多くなり、G₂/M アレストが起きているのが認められた。また、18 時間の培養でアポトー

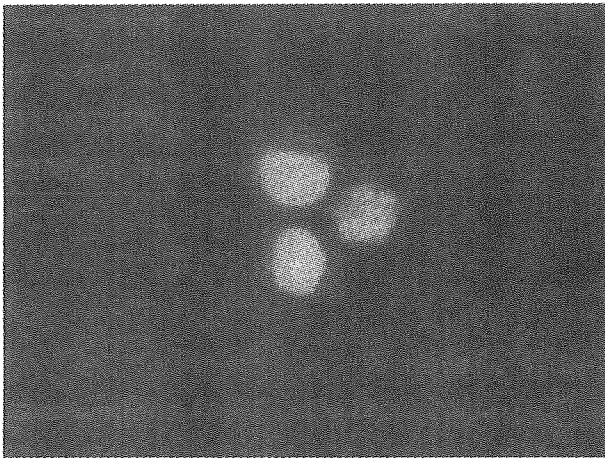
シスを表す subG1 期の割合が多くなり始め、アポトーシスしてきているのが認められた。

また、CDT を添加した U937 細胞を各時間培養し、SDS ライシスバッファーで溶解して得られたサンプルをタンパク量 15 μ g に調整し、SDS-PAGE で展開後、ウェスタンブロットを行った。その結果、12 時間を過ぎたあたりから、28 kDa のところに弱いシグナルが見え始め、18 時間 24 時間と時間を追うごとに強くなった(図 3)。

以上のことから、CDT が U937 細胞にアポトーシスおよび G₂/M 期でのアレストを引き起こしているのが明らかとなった。

図 1 CDT 添加 48 時間後の核の形態変化

A. 未処理 (x200)



B. CDT 1 μ g/ml (x200)

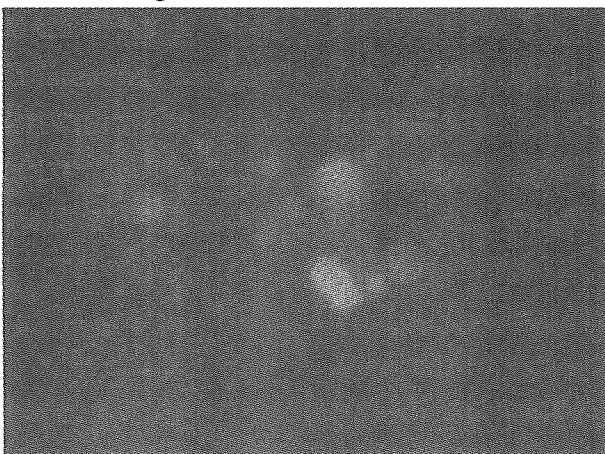


図 2 CDT 1 μ g/ml 添加後の細胞周期の変化

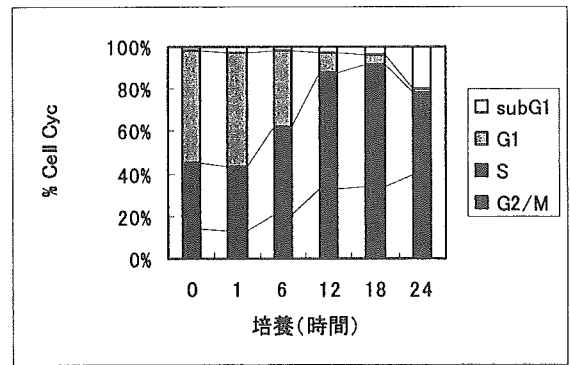
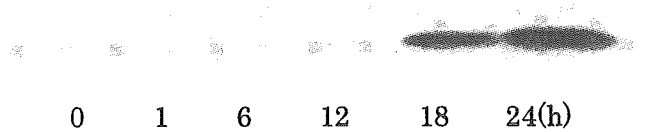


図 3 CDT による Lamin A の分解 (28 kDa)



D. 考察

歯周病細菌と考えられている *A. actinomycetemcomitans* に由来する外毒素 Cytolethal Distending Toxin (CDT) が、単球系の細胞の細胞死を誘導することが明らかとなった。

一般に単球マクロファージ系の細胞は、感染防御の担い手として重要な役割を果たしている。このことを考えあわせると、CDT による細胞死発現により初期感染防御と共に免疫系の働きが妨げられることが強く示唆された。

さらに、近年、*A. actinomycetemcomitans* が全身感染症と深く関わっているという疫学調査結果も出されていることから、*A. actinomycetemcomitans* 由来の CDT による細胞死発現により全身各臓器不全が引き起こされることも十分考えられる。

歯周病細菌のマクロファージ感染時におけるアポトーシス誘導にかかわる分子メカニズムの解析

主任研究者 西原 達次 九州歯科大学 健康増進学講座 感染分子生物学分野 教授
研究協力者 沖永 敏則 九州歯科大学 健康増進学講座 感染分子生物学分野

研究要旨

Actinobacillus. actinomycetemcomitans などの歯周病細菌が、抵抗力の弱った患者に感染すると重篤な全身疾患を引き起こされることが分かり、口腔内細菌が全身の健康を脅かす存在として注目されている。近年、要介護高齢者における誤嚥性肺炎の発症は大きな社会問題となっている。この誤嚥性肺炎は、細菌（口腔内常在菌や歯周病と関連した嫌気性菌）によって発症するということが明らかとなり、口腔内ケアにより肺炎の発症が抑えられるという臨床成績が報告されている。これは、口腔清掃状態が不良となり、歯周ポケットや舌苔中の嫌気性菌が増加すれば、誤嚥によって肺に侵入する細菌量は増加し、肺炎の症状は悪化するということを意味している。このような事実は明らかにされたものの、歯周病細菌と肺胞マクロファージに関する基礎的な研究は見られない。そこで、今回、我々が確立した実験系によりマクロファージに、歯周病細菌を感染させ、アポトーシスに至る情報伝達経路を詳細に解析した。

研究方法は、マウスマクロファージ細胞株 J774.1 に、*A. actinomycetemcomitans* の Y4 株を感染させ、アポトーシスに関わる細胞内シグナルタンパクの発現を Western blotting にて解析した。

その結果、感染マクロファージのアポトーシス誘導において caspase-6,-7 が活性化し、Lamin A と PARP の cleavage が関与していることが明らかとなった。

本研究事業において、感染防御を担当するマクロファージの細胞死のメカニズムを解明することは、単に歯周病の発症メカニズムの解明に貢献するだけでなく、肺胞マクロファージが主体となる誤嚥性肺炎の予防法の確立に貢献するものと思われる。

A. 研究の目的

近年、高齢化社会を迎え、要介護高齢者が増加している。*A. actinomycetemcomitans* などの歯周病細菌が、抵抗力の弱った患者に感染すると重篤な全身疾患を引き起こされることが分かり、口腔内細菌が全身の健康を脅かす存在として注目されている。とくに、要介護高齢者における誤嚥性肺炎の発症は大きな社会問題となっている。この誤嚥性肺炎は、細菌（口腔内常在菌や歯周病と関連した嫌気性菌）によって

発症するということが明らかとなり、口腔内ケアにより肺炎の発症が抑えられるという臨床成績が報告されている。換言すると、口腔清掃状態が不良となり、歯周ポケットや舌苔中の嫌気性菌が増加すれば、誤嚥によって肺に侵入する細菌量は増加し、肺炎の症状は悪化するということを意味している。このような事実は明らかにされたものの、歯周病細菌と肺胞マクロファージに関する基礎的な研究は見られない。そこで、今回我々が確立した *in vitro* の感染実験系を

使用し、マクロファージに歯周病細菌を感染させ、マクロファージ内でのアポトーシスに至る情報伝達系の解析を行った。これまで、歯周病細菌 *A. actinomycetemcomitans* がマクロファージに感染すると、G1 期における細胞周期の停止やアポトーシスが誘導されることを見出した。そして、アポトーシスのプロセスではミトコンドリアからのシトクロム C の放出と caspase-3,-9 に至る経路が解明された(図 1)。

A. actinomycetemcomitans infection

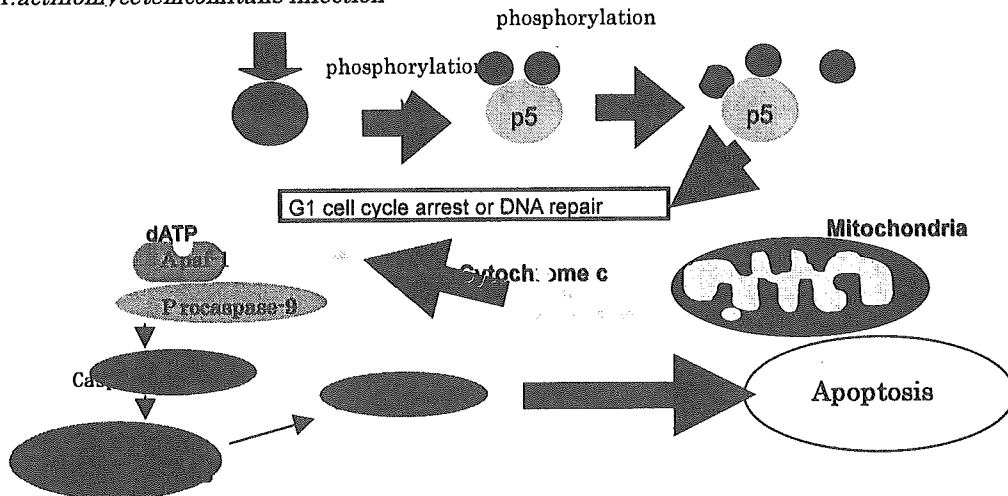


図 1 現在までに明らかにされた情報伝達経路

しかし、感染後、マクロファージ内での歯周病細菌の活性発現メカニズムについて、細菌が産生する分子と細胞内のアポトーシス誘導タンパク(caspase cascade など)との直接的な関わりは不明である。そこで本研究では、*A. actinomycetemcomitans* 感染マクロファージにおいて、caspase-3,-9 以降の下流に至る細胞内情報伝達系の解析を行なった。

B. 研究対象および方法

マウスマクロファージ細胞株 J774.1 に、*A. actinomycetemcomitans* の Y4 株を感染させ、アポトーシスに関わる細胞内シグナルタンパクの発現を Western blotting にて解析した。また、caspase 阻害剤を使用し、フローサイトメーターにて細胞周期とアポトーシスの発現を調べ、細胞内シグナルタンパクの発現を Western blotting で解析した。また、Caspase cascade を阻害による細胞周期の観察と情報伝達経路の解析として、アポトーシスを起こす際に重要な役割を果たす caspase を阻害すること

により、*A. actinomycetemcomitans* 感染マクロファージのアポトーシス誘導がどのように変化するか検証した。さらに caspase による細胞内タンパクの分解に及ぼす影響についてもあわせて検討した。ここでは、細胞構造を維持するタンパクとして重要な役割を果たしている Lamin A、PARP、について詳

細に調べた。

C. 研究結果・考察

A. actinomycetemcomitans 感染後、caspase-6,-7 の活性が上昇し、核膜構成タンパクの Lamin A と DNA 修復に関与する PARP の cleavage が検出された。また、caspase-3,-6-7 阻害剤を作用させると G1 期の細胞周期は確認されたがアポトーシスは抑制され(図 2)

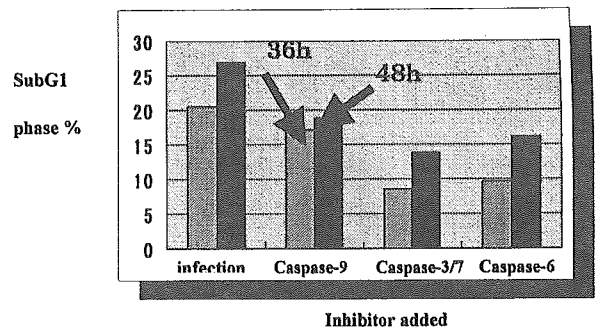


図 2: caspase inhibitor によるアポトーシスの抑制

Lamin AとPARPの cleavage は確認されなかった。以上により、感染マクロファージのアポトーシス誘導において caspase-6,-7 が活性化し、Lamin AとPARP の cleavage が関与していることが明らかとなった(図 3)。

D. 結論

今回の研究で、歯周病細菌の接着・侵入そして歯周組織において感染防御を担当するマクロファージの細胞死のメカニズムの一担が明

らかとなった。このことにより、単に歯周病の発症メカニズムの解明に貢献するだけでなく、誤嚥性肺炎といった全身疾患の予防が可能となる。今後、さらに、次のステップとして動物実験モデルを作成し、誤嚥性肺炎についても検討していく予定である。このような基礎研究成果が蓄積されていくことにより、肺胞マクロファージの活性化による細菌増殖の抑制など、新たな誤嚥性肺炎予防への道が開かれると考えている。

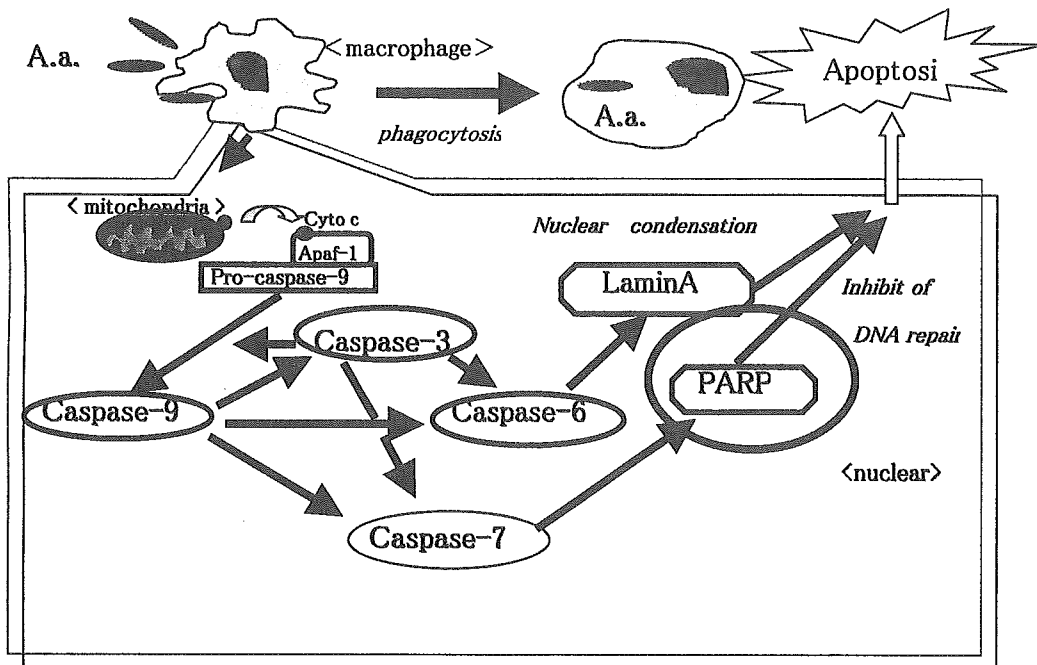


図3:感染マクロファージのアポトーシスに至る情報伝達経路

唾液腺細胞に薬剤を導入する方法の開発に関する基礎的研究

主任研究者 西原 達次 九州歯科大学 健康増進学講座 感染分子生物学分野 教授
 研究協力者 岩永 賢二郎 九州歯科大学 口腔顎顔面外科学講座 病態制御学分野

研究要旨

口腔乾燥症とは、種々の原因による唾液の分泌低下のため、口腔内が乾燥する疾患である。口腔乾燥症による食生活上の障害は、患者にとって大きな負担であり、Quality of life(生活の質)の向上の観点からも、これに対する対応が望まれている。しかし、現状では、種々の日常生活指導や口腔ケア、唾液腺マッサージなどの対症療法が主に行われており、根本的な治療法はいまだ確立されていない。唾液の分泌低下は主に唾液腺細胞の機能低下によると考えられている。そこで、唾液腺細胞の機能を活性化する方法として超音波を用いた新たな遺伝子・薬剤導入法であるソノポレーション法に着目した。

ソノポレーション法は局所に照射された超音波により細胞膜に一時的に小孔を開け、その穴を介して遺伝子および薬剤を導入する方法で、正常組織への為害性が少ないことが大きな利点である。しかし、超音波を用いただけでは遺伝子の導入効率は低く、その改善が急務であった。申請者らはこの方法の検討に着手し、超音波造影剤であるマイクロバブルを用いることで、導入効率が飛躍的に向上することを確認した。また *in vitro*、*in vivo* の実験系にてソノポレーション法を用いヒト歯肉扁平上皮癌細胞 Ca9-22 cell および、同細胞を移植した担癌マウスに抗癌剤および細胞毒素関連遺伝子を導入したところ、コントロール群に比べ、導入群で明らかな致死活性効果の増強が認められた。

これらの結果は、超音波により細胞膜に可逆性の細孔が形成され、薬剤および遺伝子の細胞内到達が改善され、より多くの薬剤および遺伝子が効果的に腫瘍細胞に働いたためと考えられた。また、現在、唾液腺の検査として唾液腺管にカテーテルを挿入して造影剤を注入して唾液腺の機能や唾石の有無などを検査する唾液腺造影が行われている。したがって、超音波造影剤であるマイクロバブルを唾液腺管に注入し、唾液腺局所にバブルを集積させ、超音波で診断した上で、治療用超音波エネルギーでバブルを破壊し、その部位で薬物および遺伝子を導入できる。超音波で非侵襲的かつ安全に遺伝子および薬物導入を増強・制御できれば、口腔乾燥症に対する新しい治療方法として多いに期待できるものと考えられる。

A. 研究の目的

口腔乾燥症で日常生活に不自由を感じている患者が多いにもかかわらず、現状では、種々の日常生活指導や口腔ケア、唾液腺マッサージなどの対症療法が主に行われており、根本的な治療法はいまだ確立されていない。唾液の分泌低下は主に唾液腺細胞の機能低下によると考えられている。そこで、唾液腺細胞の機能を活性化する方法として超音波を用いた新たな遺伝子・薬剤導入法であるソノポレーション法に着目した。

る抗体による免疫染色を行い、病理組織学的に評価した。

C. 研究結果・考察

超音波の最適条件を検討したところ、周波数 1.0 MHz, 超音波強度 2.0 W/cm², DUTY 比 10%、照射時間 20 秒で最大の効果が認められ、マイクロバブルを併用することにより導入効率が約 250 倍増強した。*In vitro* の実験系で BLM および pVIVO1-*cdtB* を Ca9-22 cell に導入したところ、

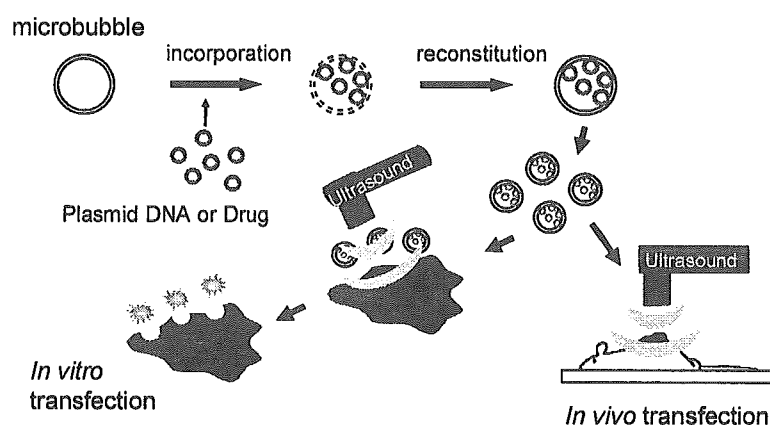


図1. ソノポレーション法の概要

B. 研究対象および方法

ヒト歯肉扁平上皮癌細胞株 Ca9-22 cell を実験に用いた。細胞懸濁液に β -galactosidase 発現プラスミドとマイクロバブルの混合液を加え、超音波発振装置を用い超音波照射した。24 時間培養後、X-gal 染色を行い、陽性細胞数を計測し、導入効率を検討した。次に、*in vitro* の実験系で、Ca9-22 cell に Bleomycin (BLM) および細胞毒素関連遺伝子 (pVIVO1-*cdtB*) を導入し、Flow cytometry, Hoechst 染色により細胞の状態を観察した。さらに、ヌードマウスの背部に Ca9-22 cell を移植して担癌マウスを作製し、同装置を用いて担癌マウスの癌組織に BLM および pVIVO1-*cdtB* を導入し、抗腫瘍効果を検討した。また同組織から切片標本作製し TUNEL 染色、caspase-3 を認識す

強い致死活性の発現が認められた。また Flow cytometer を用いて解析したところ、BLM を導入した群では sub-G1 期の細胞数の増加、Annexin-V/PI 陽性細胞数の増加が観察された。また、Hoechst 染色にて細胞死を示す核の断片化が著明に認められた。*In vivo* の実験系において、BLM および pVIVO1-*cdtB* を導入した群では処置後 4 週目で明らかな抗腫瘍効果が認められた。また、TUNEL 染色、caspase-3 を認識する抗体による免疫染色の結果、導入群の腫瘍細胞の一部に TUNEL 陽性細胞、caspase-3 陽性細胞が認められた。

これらの結果は、超音波により細胞膜に可逆性の細孔が形成され、薬剤および遺伝子の細胞内到達が改善され、より多くの薬剤および遺伝子が効果