

生存関数

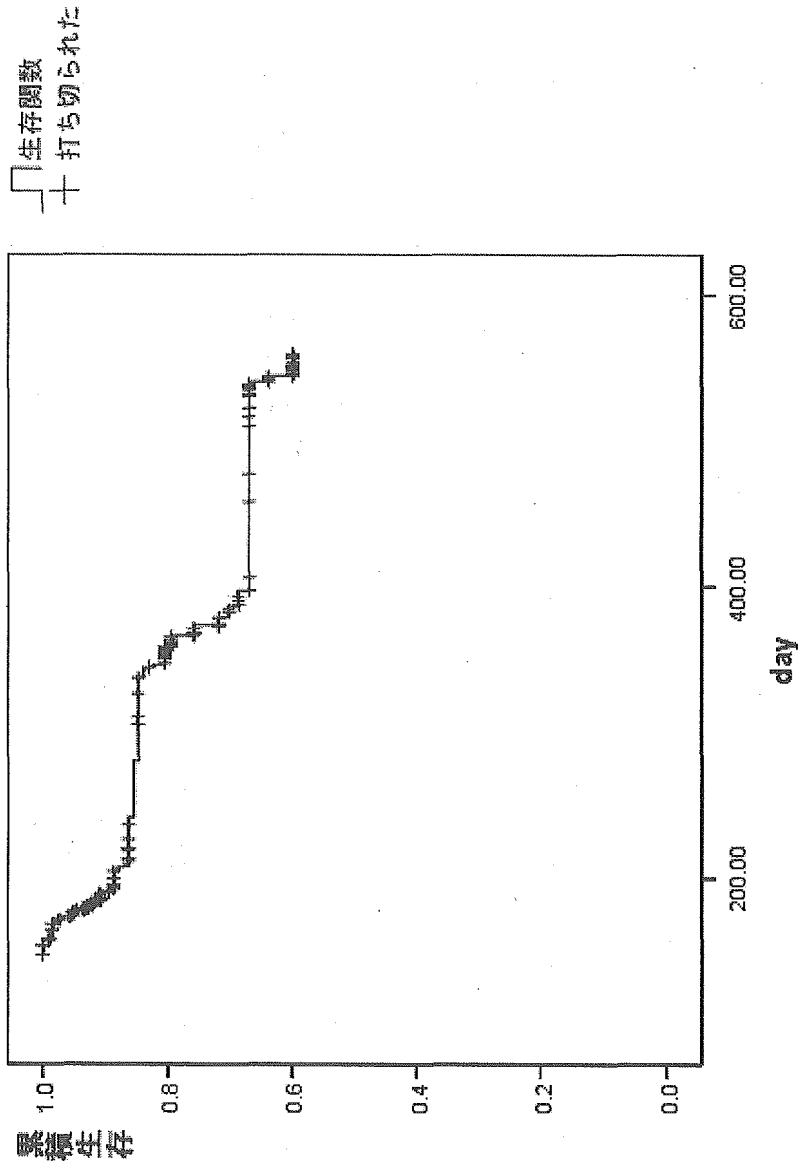


図7 歯周疾患再発の生存曲線

厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）
分担研究報告書

歯周病と唾液因子との関連性の解析

分担研究者 沼部幸博 日本歯科大学歯学部歯周病学講座教授

研究要旨

唾液検査による歯周病の病態把握の可能性を探るため、乳酸脱水素酵素、アルカリホスファターゼ、白血球エステラーゼの3種の唾液因子について、唾液採取法を含め、歯周病との関連性について検討した。その結果、乳酸脱水素酵素とアルカリホスファターゼは安静唾液、刺激唾液ともに、歯周ポケットの有無と関連性が高く、乳酸脱水素酵素は歯周病の程度を示すポケットの深さとも相関性が高かった。一方、白血球エステラーゼは唾液の採取法により関連性に相違が認められた。これらのことより、唾液検査を精度良く行うためには、因子の特性に応じて唾液の採取法を選定する必要があること、今回検討した3種の唾液因子は歯周病の唾液検査因子として有望なことが示唆された。

A. 研究目的

歯周病の簡便な検査法として唾液検査が注目され、細菌由来因子、宿主の炎症由来因子等、多くの因子が検討されてきた。我々は、歯周病の唾液検査をより信頼性の高いものにするため、唾液の採取法が唾液因子に及ぼす影響に着目し、職域成人を対象にした研究において、唾液因子により安静唾液と刺激唾液では歯周ポケット有無との関連性に相違があることを報告してきた。今回は、唾液検査による確度の高い病態把握の可能性を探る為、歯周病患者を被験者に加え、乳酸脱水素酵素、アルカリホスファターゼ、白血球エステラーゼの3種の唾液因子について、歯周病との関連性をさらに精査したので報告する。

B. 研究方法

1. 対象

被験者は職域歯科検診（C P I 調査）において 4mm 以上の歯周ポケットが認められなかった 58 名（健常群：25 歳～58 歳、平均 40.6 ± 8.3 歳、男 47 名、女 11 名）、および日本歯科大学附属病院に来院した初診患者で 4mm 以上の歯周ポケットを有する 49 名（歯周炎群：25 歳～73 歳、平均 52.3 ± 11.7 歳、男 19 名、女 30 名）とした（表 1、表 2）。

2. 唾液の採取

安静唾液は口腔内に貯留した唾液を吐唾液法で採取した。刺激唾液は、パラフィンガムを咀嚼して口腔内に貯留した唾液を吐唾液法で採取した。

3. 歯周ポケットの評価

日本歯科大学附属病院に来院した初診患者で、試験に同意が得られた患者を対象に、一歯六点法にて全歯の Probing Depth (PD) を測定した。

4. 唾液検査

白血球エステラーゼ (ライフスティックス、バイエルメディカル (株)) は、採取した唾液を速やかに攪拌後測定した。乳酸脱水素酵素 (Wroblewski-La Due 法)、アルカリホスファターゼ (p-ニトロフェニルリン酸を用いた比色法) は、遠心上清を測定した。

5. 統計解析

各測定値と歯周ポケット有無との関係については、白血球エステラーゼはカイ二乗検定、その他は t 検定を行い、危険率 5% 以下を有意とした。歯周病の程度 (PD の平均値) との関係については、白血球エステラーゼはロジスティック回帰、その他はピアソンの相関係数により解析した。

C. 結果と考察

1. 歯周炎群の歯周ポケット

歯周炎群の PD の分布を図 1 に示した。一歯六点法にて全歯の PD を測定した結果、23.7 % の部位に 4 mm 以上の歯周ポケットが認められ、6 mm 以上の歯周ポケットは 4.2 % であった。なお、一口腔あたり、4 mm 以上の歯周ポケットが認められた部位は 38.9 ± 35.0 であった。

2. 歯周ポケット有無との関連性

乳酸脱水素酵素とアルカリホスファターゼは、安静唾液、刺激唾液共に歯周炎群が健常群に比較して有意に高かった (図 2、図 3)。また、白血球エステラーゼは安静唾

液において、歯周炎群が健常群に比較して有意に高かった (図 4)。乳酸脱水素酵素とアルカリホスファターゼは、安静唾液、刺激唾液ともに歯周ポケットの有無とよく関連しており、唾液の採取法にかかわらず歯周病のスクリーニングに適した唾液因子と考えられる。一方、白血球エステラーゼは唾液の採取法により歯周ポケットの有無との関連性に相違が認められ、刺激唾液では歯周ポケットの有無との関連が認められなかった。多くの被験者で、刺激唾液は試験紙の測定上限に達しており、希釈することで安静時唾液と同様な結果となる可能性もある。

3. 歯周病の程度との関連性

乳酸脱水素酵素は、安静唾液と刺激唾液ともに PD の平均値と正の相関 (図 5) が認められたが、アルカリホスファターゼは関連性が低かった (図 6)。白血球エステラーゼは、刺激唾液において PD 平均値と関連性 (図 7) が認められた。乳酸脱水素酵素は PD の平均値と相関したことから、組織破壊性マーカーとして歯周病の病態をよく表しているものと考えられる。また、白血球エステラーゼに唾液の採取法により歯周病との関連性に相違が認められたのは、刺激唾液採取時のパラフィンガム咀嚼に伴う唾液分泌の亢進、歯肉溝液の滲出等の影響を受けたためと考えている。

D. 結論

乳酸脱水素酵素、アルカリホスファターゼ、白血球エステラーゼの 3 種の唾液因子について、歯周病との関連性について検討した。その結果、乳酸脱水素酵素とアルカリホスファターゼは安静唾液、刺激唾液と

もに、歯周ポケットの有無と関連性が高く、乳酸脱水素酵素はポケットの深さとの相関性も高かった。一方、白血球エステラーゼは唾液の採取法により異なる関連性を示した。これらのことより、唾液検査を精度良く行うためには、因子の特性に応じて唾液の採取法を選定する必要があるが、今回検討した3種の唾液因子は歯周病の唾液検査因子として有望なことが示唆された。

E. 研究発表

1) 歯周病と唾液因子との関連性の解析(第3報)

ライオン(株) ¹⁾オーラルケア研究所、²⁾(財)ライオン歯科衛生研究所、³⁾日本歯科大学歯学部附属病院総合診療科、⁴⁾日本歯科大学歯学部歯周病学講座、⁵⁾日本歯科大学歯学部
中村 晶 ¹⁾、清重達夫 ¹⁾、中島一郎 ¹⁾、村越倫明 ¹⁾、山崎洋治 ²⁾、久野彰子 ³⁾、仲谷 寛 ³⁾、大澤銀子 ³⁾、飯野賀子 ⁴⁾、石黒一美 ⁴⁾、鴨井久一 ⁵⁾、日本歯周病学会第48回秋期学術大会、平成17年9月22日(木)、札幌コンベンションセンター (J Jpn Soc Periodontol, Vol.47, August, pp.155, 2005)

F. 研究協力者

- 1) 中村 晶、ライオン(株)オーラルケア研究所
- 2) 清重達夫、ライオン(株)オーラルケア研究所
- 3) 中島一郎、ライオン(株)オーラルケア研究所
- 4) 村越倫明、ライオン(株)オーラルケア研究所
- 5) 山崎洋治、(財)ライオン歯科衛生研究所

- 6) 久野彰子、日本歯科大学歯学部附属病院総合診療科
- 7) 仲谷 寛、日本歯科大学歯学部附属病院総合診療科
- 8) 大澤銀子、日本歯科大学歯学部附属病院総合診療科
- 9) 飯野賀子、日本歯科大学歯学部歯周病学講座
- 10) 石黒一美、日本歯科大学歯学部歯周病学講座
- 11) 鴨井久一(平成15、16年度主任研究者、日本歯科大学歯学部名誉教授)

年齡	性別		
	男性	女性	合計
20-29	2	2	4
30-39	15	4	19
40-49	22	5	27
50-59	8	0	8
合計	47	11	58

(平均40.6±8.3歲)

表1 健常群年齡、性別構成

年齡	性別		
	男性	女性	合計
20-29	1	0	1
30-39	3	5	8
40-49	4	6	10
50-59	6	9	15
60-69	3	8	11
70-	2	2	4
合計	19	30	49

(平均52.3±11.7歲)

表2 齒周炎群年齡、性別構成

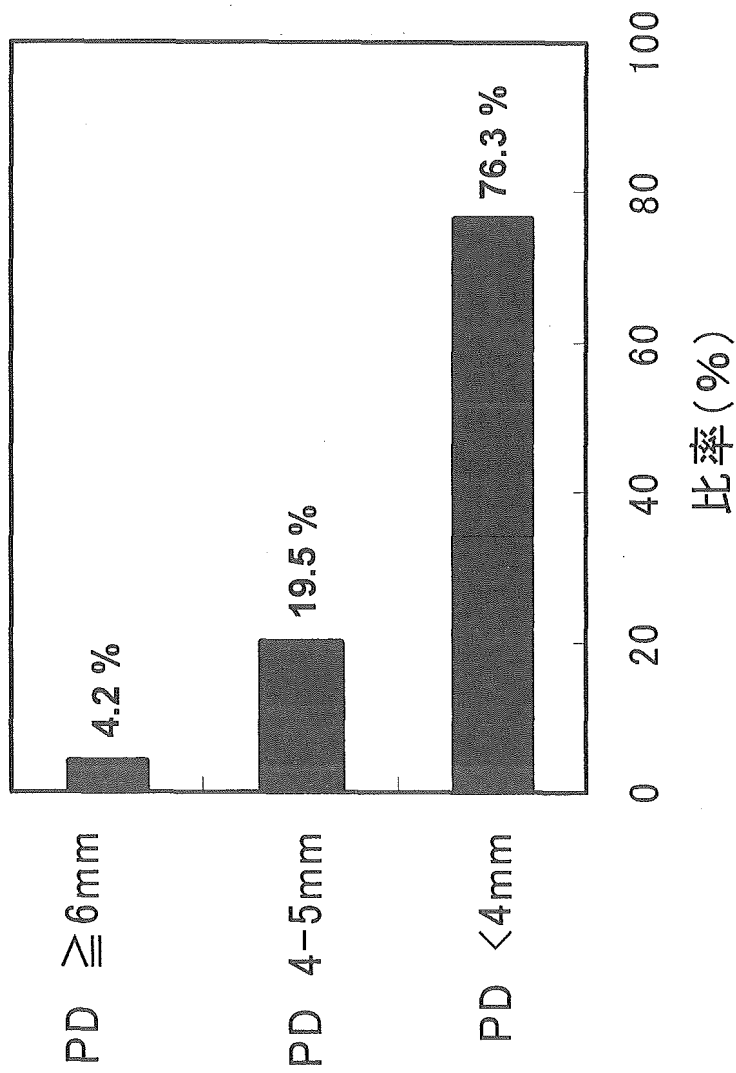


図1 菌周炎群のPD分布

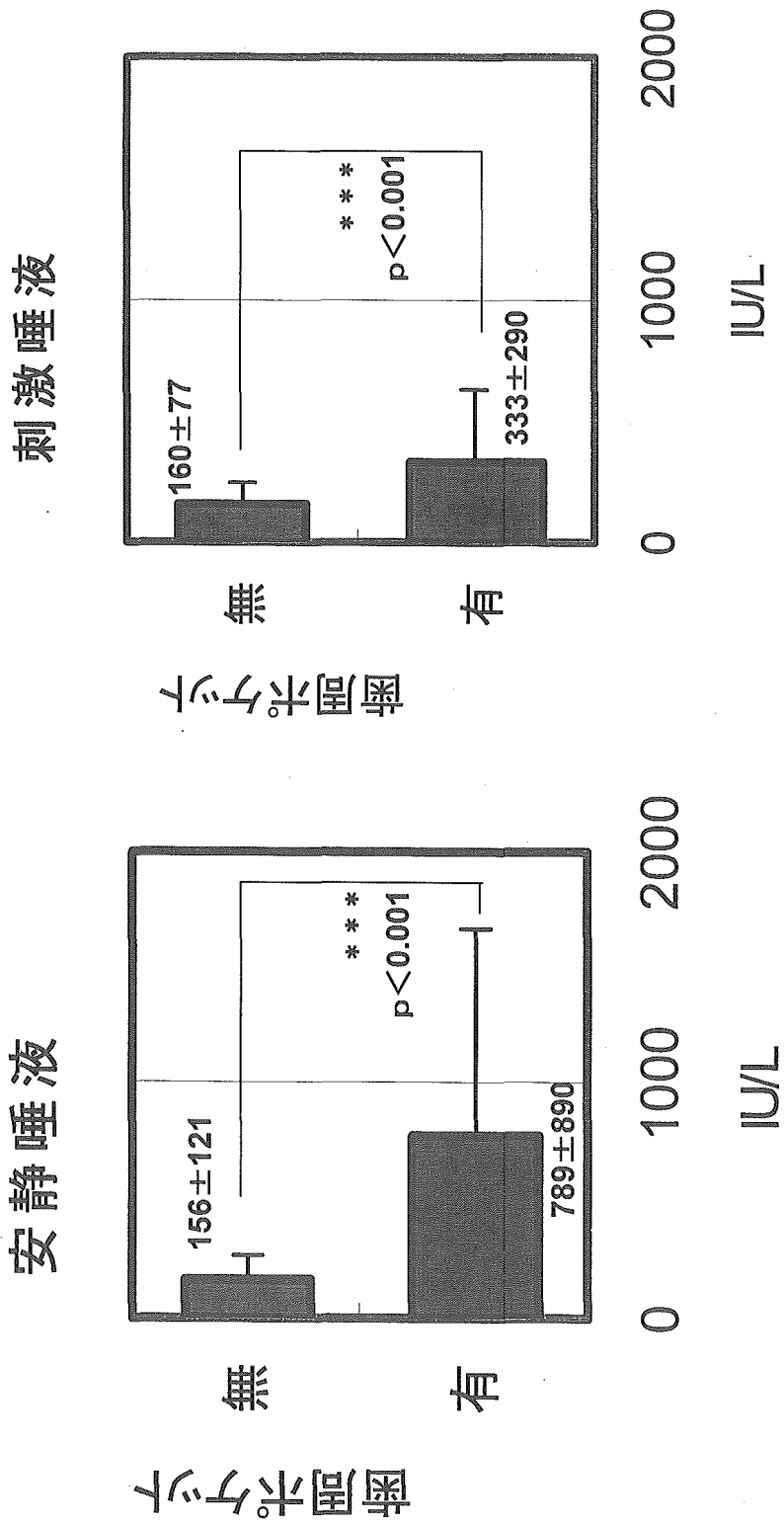


図2. 乳酸脱水素酵素と菌周ポケット有無との関連性

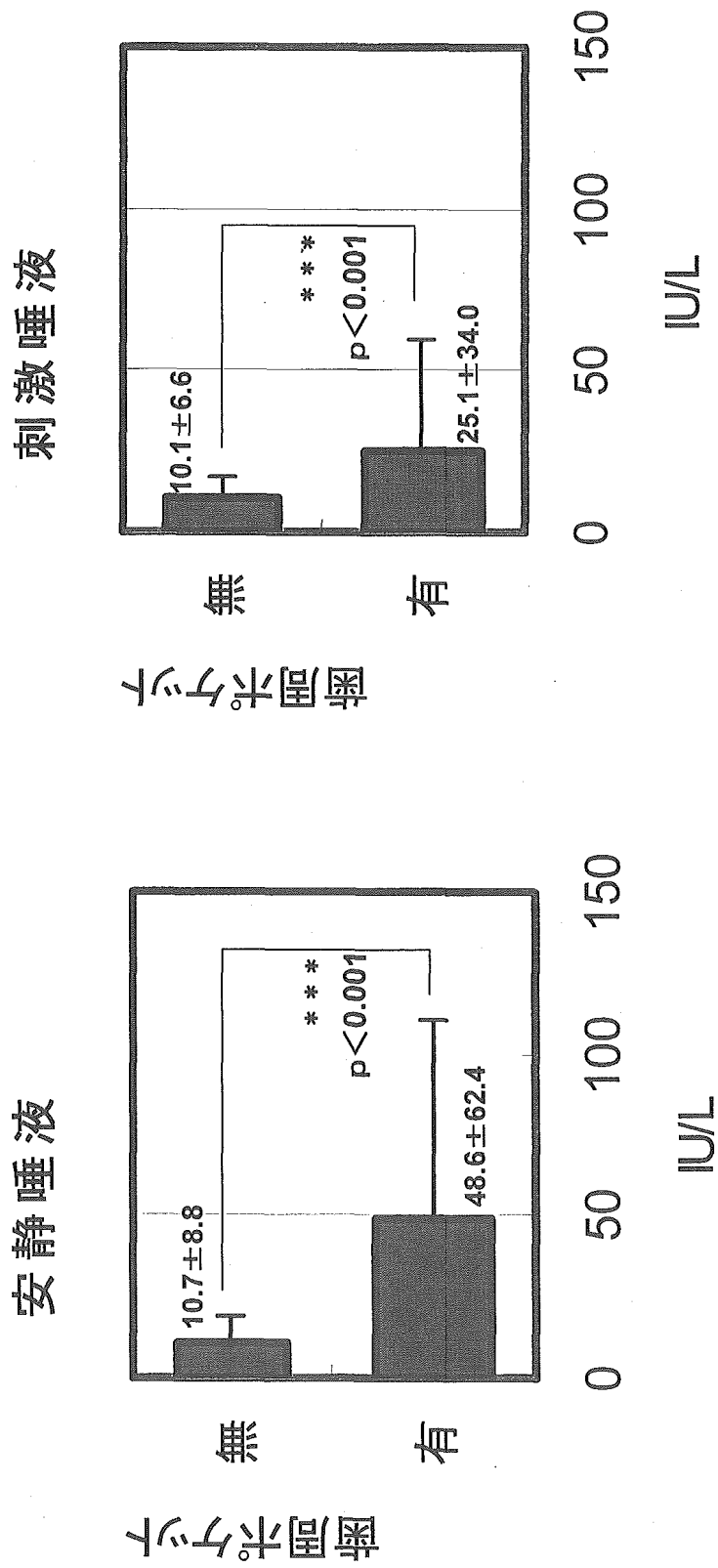
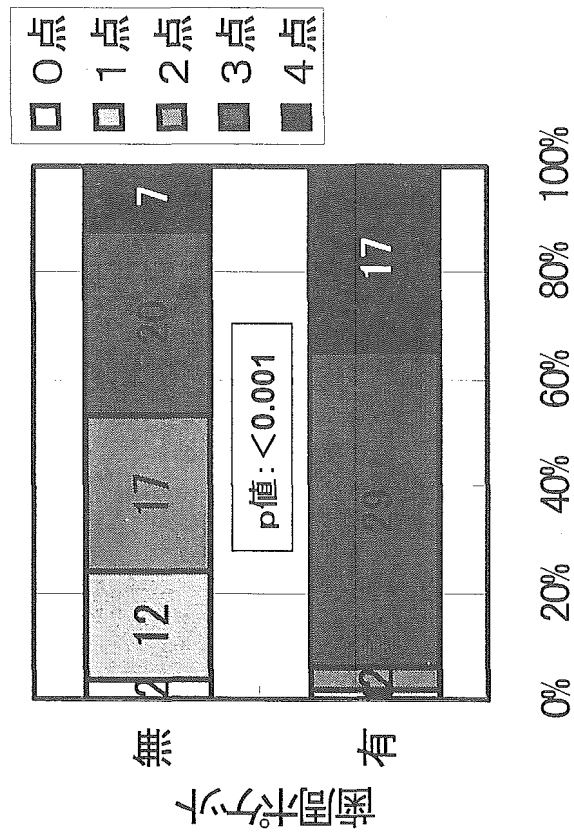


図3. アルカリホスファターゼと歯周ポケット有無との関連性

安静唾液



刺激唾液

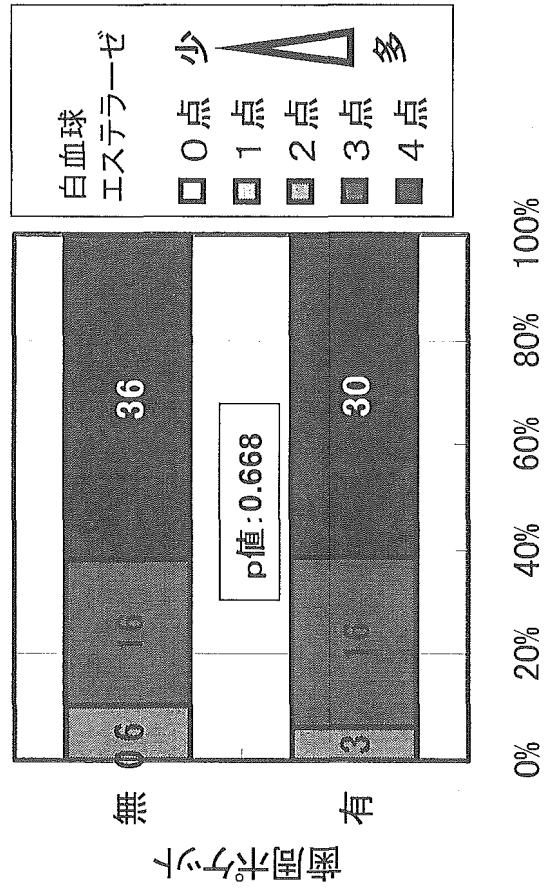


図4. 白血球エステラーゼと歯周ポケット有無との関連性

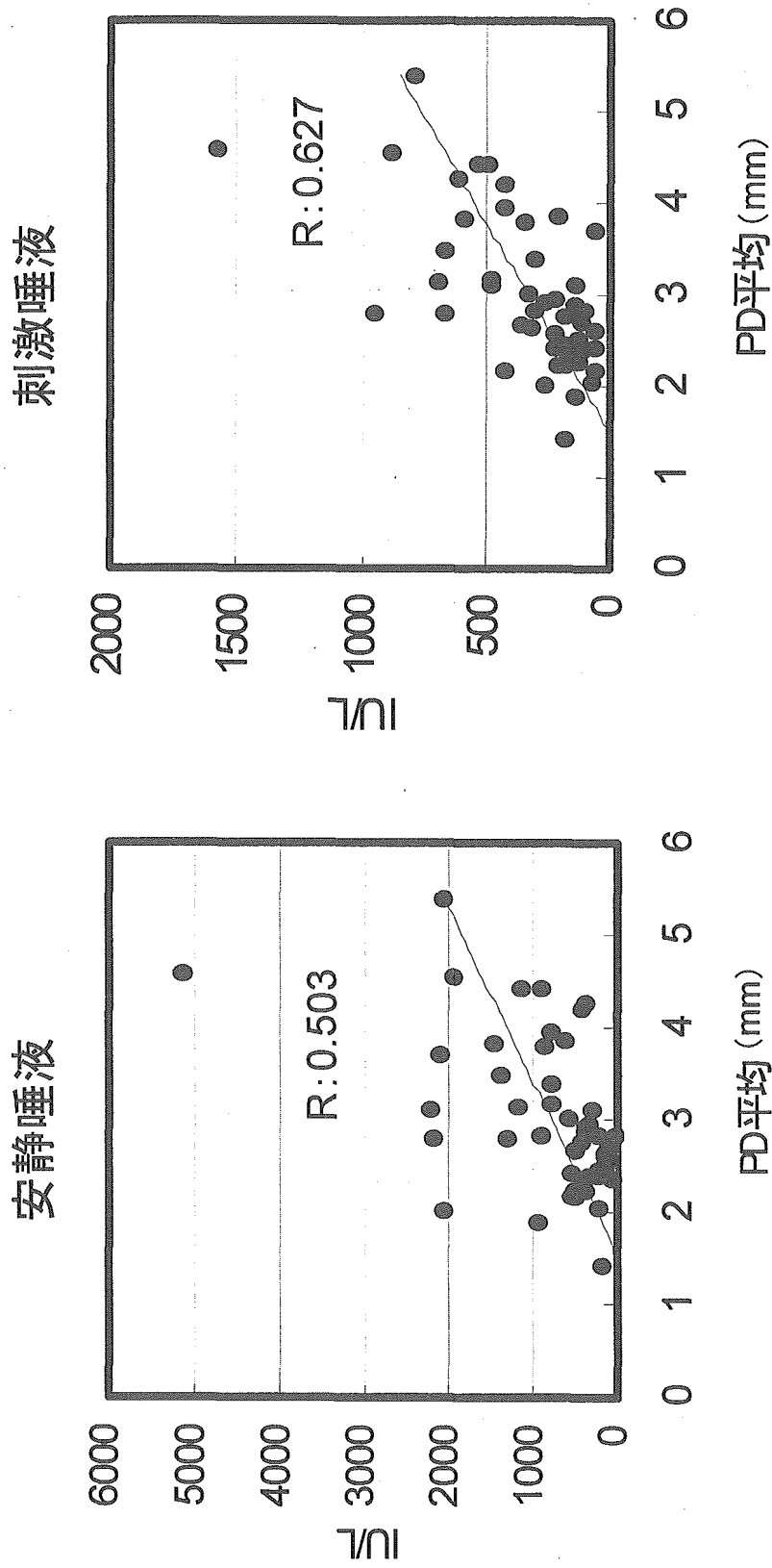


図5. 乳酸脱水素酵素とPDとの関連性

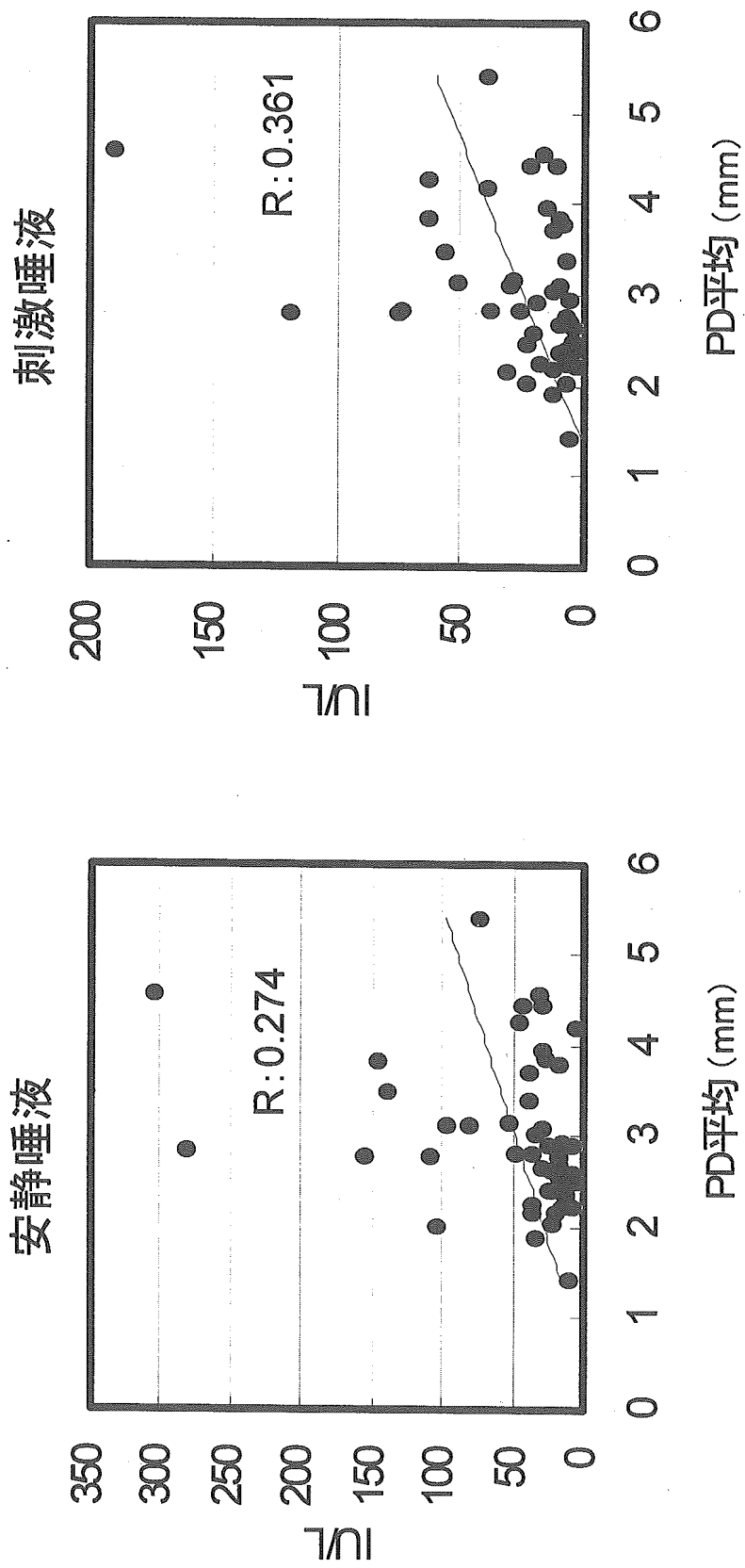
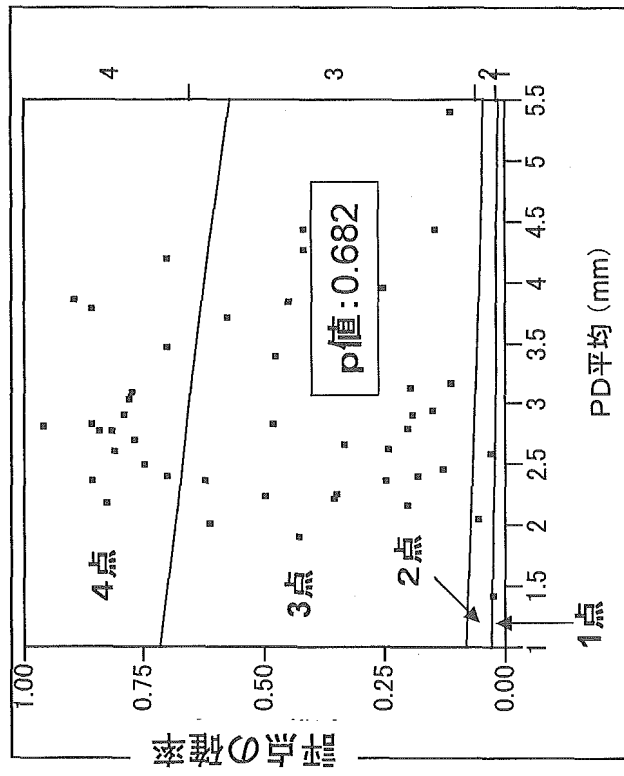


図6 アルカリホスファターゼとPDとの関連性

安静唾液



刺激唾液

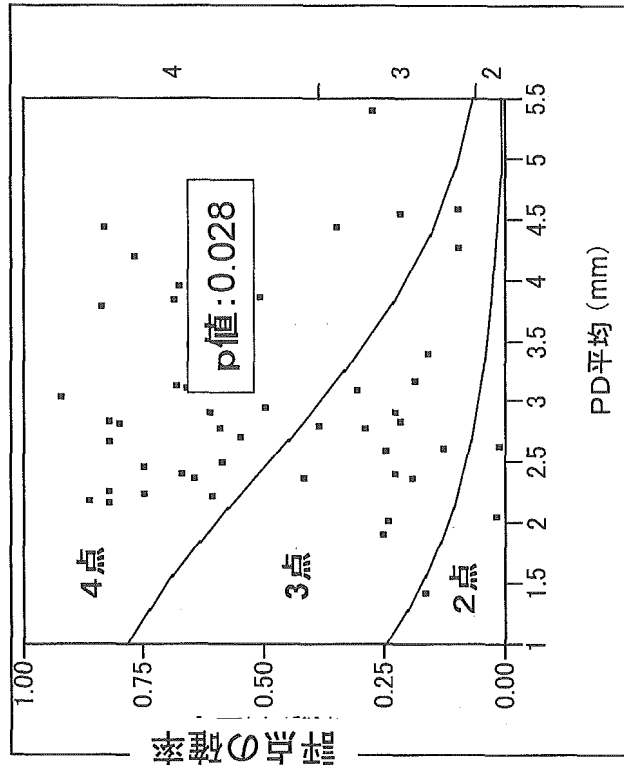


図7 白血球エステラーゼとPDとの関連性

厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）
分担研究報告書

唾液生化学検査による歯周病発症の予知に関する検討

分担研究者 佐藤 勉 日本歯科大学歯学部助教授

研究要旨

昨年度までの研究成果から、唾液中の aspartate aminotransferase (AST)、alanine aminotransferase (ALT)、lactate dehydrogenase (LDH) および遊離ヘモグロビン (f-Hb) は歯周病の病態を反映し、歯周病のスクリーニング検査項目として有用であることが示された。

本年度はこれらの生化学検査項目のうち、AST、ALT および LDH が歯周病発症の予知に有用な検査となりうるか否かについて検討した。その結果、これら3種の酵素はいずれも歯周病の発症、進行の予知に有用な検査項目となりうる可能性のあることが示唆された。加えて、これら酵素測定は歯周病に対する代用エンドポイント（サロゲートエンドポイント）となりうる可能性も示唆された。

A. 研究目的

従来、歯周病健診は歯周組織の形態変化を歯科医師が直接観察、計測することによって行われてきた。この方法はある意味では臨床行為と同様の行為であり、歯周病健診のコストの増大、歯周病健診の低受診率をもたらしていることが考えられる。これまでの研究班の研究成果から、唾液中の aspartate aminotransferase (AST)、alanine aminotransferase (ALT)、lactate dehydrogenase (LDH) および遊離ヘモグロビン (f-Hb) は歯周病の病態を反映し、歯周病のスクリーニング検査項目として有用であることが示された。本年度の研究目的は、これらの生化学検査が歯周病発症予知の検

査項目になりうるか否かについて検討することである。すなわち、これらの生化学検査が歯周病発症の予知に有用となれば、検査陽性者に対して積極的な予防処置を講じることで、その発症を未然に防ぐことが可能になり、さらには医療費削減に結びつくものと思われる。

B. 研究対象と方法

1. 対象

本研究班で追跡調査を行っている某市役所職員のうち、2003年と2004年の歯周病健診および唾液検査をともに受診した87名（男性64名、女性23名）を分析対象とした。対象者の平均年齢は 38.33±9.51 歳

であった(表1、表2)。対象者には事前に本研究に関する十分な説明を行い、同意を得た。なお、本研究は日本歯科大学歯学部倫理委員会の承認を得ている。

2. 方法

歯周病検診は十分なキャリブレーションを行った4名の歯科医師により実施された。4点法で歯周ポケットを計測した後、4mm以上の歯周ポケットを1カ所以上有する者を歯周病群、4mm以上のポケットが存在しない者を健常群とした。また、2003年に歯周病と診断された者のうち、歯周ポケットの深さが3mm以上進行した者を歯周病進行者とした。唾液採取は無味、無香料のガムベース(1g)を5分間咀嚼することにより流出した刺激唾液を全量採取することにより行った。採取した唾液は測定まで氷冷下に保存した。測定した生化学検査項目はAST、ALT、およびLDHである。

C. 研究結果

2003年において歯周病と診断された者は55名、健常と診断された者は32名であった。表3に2003年と2004年における対象者のポケット測定結果を示した。2003年においてAST、ALTおよびLDHはいずれも健常群に比べ歯周病群で有意に高値を示した(表4)。また、ROC曲線により感度、特異度が均衡する点をカットオフポイントとし、感度、特異度、陽性的中率および陰性的中率を求めた。感度、特異度では、ALTの特異度を除き0.6以上であり、これら酵素による歯周病スクリーニングの可能性が再確認できた(表5)。

2003年に健常と判定された32名のうち、1年後に4mm以上のポケットが認められ

た者は12名であった。4mm以上の歯周ポケットが認められた者と認められなかった者とで、3種の酵素活性を比較した結果、ASTとALTでは4mm以上のポケットを有する者で高値を示し、ALTでは統計学的な有意差が認められた(表6)。

2003年に歯周病と診断された55名のうち、1年後に歯周病が進行した者は41名であった。歯周病が進行した者としなかった者とで酵素活性を比較した結果、進行した者がAST、ALTおよびLDHの全てにおいて高値を示したが、統計学的有意差は認められなかった(表7)。しかし、それぞれの基準値で評価した場合、LDHでは感度、特異度ともに0.6に近い値を示したことから、本酵素は歯周病進行の予知に応用できる可能性が示唆された。

D. 考察

今回の調査では対象者数が十分な数でないため、いくつかの評価において統計学的な有意差が認められなかったものの、健常者と歯周病患者、歯周病が発症しなかった者と発症した者、歯周病が進行しなかった者と進行した者のいずれの比較においても、AST、ALTおよびLDHの全ての酵素で、後者の方が高い値を示した。また、各酵素の基準値を比較した場合、全ての酵素で、歯周病の発症、歯周病の診断、歯周病の進行の順で基準となる値が高くなっていた。特に健常者が歯周病を発症する場合、唾液中のAST、ALTが歯周組織の形態変化に先立って検査値が上昇する可能性があり、このことから、歯周病の発症、進行の予知にこれら酵素が有用である可能性が示唆された。加えて、これら酵素が歯周病に対する

代用エンドポイント（サロゲートエンドポイント）となりうる可能性も示唆された。

E. 結論

唾液中の aspartate aminotransferase (AST)、alanine aminotransferase (ALT)、lactate dehydrogenase (LDH)は、歯周病の発症および進行を予知する検査項目となりうることが示された。さらに、これらの酵素測定は歯周病に対する代用エンドポイント（サロゲートエンドポイント）となりうる可能性も示唆された。

研究協力者

桐村和子（日本歯科大学歯学部共同利用センター教授）
米満正美（岩手医科大学歯学部予防歯科学講座教授）
宮崎秀夫（新潟大学大学院医歯薬総合研究科口腔生命科学専攻口腔健康歯科学講座口腔保健推進分野教授）
竹原直道（九州歯科大学予防歯科学講座教授）
中垣晴男（愛知学院大学歯学部口腔衛生学講座教授）
雫石 聡（大阪大学大学院歯学研究科分子病態口腔科学専攻口腔分子免疫制御学講座教授）

八重垣健（日本歯科大学歯学部衛生学講座教授）
花田信弘（国立保健医療科学院口腔保健部部长）
黒川孝一（埼玉県健康福祉部健康づくり支援課歯科保健・成人保健担当）
稲葉大輔（岩手医科大学歯学部予防歯科学講座助教授）
泉福英信（国立感染症研究所細菌第一部室長）
今井 奨（国立保健医療科学院口腔保健部室長）
高橋建作（日本歯科大学歯学部附属病院総合診療科助教授）
那須優則（日本歯科大学歯学部共同利用センター助教授）
野村義明（鶴見大学歯学部予防歯科学講座講師）
田中とも子（日本歯科大学歯学部衛生学講座講師）
玉置 洋（神奈川歯科大学社会医歯学系健康科学講座助手）
北田加代美（日本歯科大学歯学部衛生学講座医療技術職員）
石川征夫（トヨタ自動車（株）東京総務部人事室安全衛生グループ）
三橋千代子（トヨタ自動車（株）東京総務部人事室安全衛生グループ）
原田雅博（静岡県歯科医師会）
古谷みゆき（静岡県健康福祉部）

表1 対象者の性別と喫煙状況

		n	%
Gender	Male	64	73.6
	Female	23	26.4
Smoking	Non smoker	65	74.7
	Previous smoker	6	6.9
	Current smoker	16	18.4

表2 対象者の年齢と現在歯数

	Mean	SD	Min	Max
Age	38.33	9.51	24	59
Number of the remaining teeth	28.80	1.76	20	32

表3 対象者のポケット測定結果

Mean Pocket Depth	Mean	SD	Min	Max
2003	2.06	0.47	1.20	3.86
2004	1.96	0.61	1.04	3.62

表4 健常群と歯周病群における酵素活性値の比較

	Periodontal Disease	n	Mean	SD	P-value
AST	-	32	54.09	30.84	0.00
	+	55	79.04	44.78	
ALT	-	32	26.81	24.05	0.01
	+	55	44.95	38.31	
LDH	-	32	224.47	119.03	0.00
	+	55	356.15	252.01	

表5 各酵素検査のスクリーニング特性

	Cut off point	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value
AST	55.5	0.64	0.63	0.74	0.50
ALT	23.5	0.67	0.59	0.74	0.51
LDH	245.5	0.65	0.63	0.75	0.51

表6 1年後における4mm以上のポケット形成の有無と酵素活性との関連

	Periodontal Disease	n	Mean	SD	P-value
AST	-	20	50.75	33.20	0.22
	+	12	59.67	26.86	
ALT	-	20	22.65	24.57	0.08
	+	12	33.75	22.45	
LDH	-	20	247.25	125.34	0.21
	+	12	186.50	101.40	

表7 歯周病進行と酵素活性との関連

	Progression	n	Mean	SD	P-value
AST	-	14	77.64	45.31	0.92
	+	41	79.51	45.16	
ALT	-	14	44.36	38.53	0.95
	+	41	45.15	38.71	
LDH	-	14	340.14	259.49	0.51
	+	41	361.61	252.45	

表8 各酵素の基準値による歯周病進行の予知

	Cut off point	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value
AST	66	0.51	0.57	0.29	0.78
ALT	30	0.51	0.57	0.29	0.78
LDH	266	0.59	0.57	0.32	0.80

厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）
分担研究報告書

唾液生化学検査のスクリーニング指標としての有用性
—CPI との比較検討—

分担研究者 鶴本明久 鶴見大学歯学部教授

研究要旨

歯周病の集団健診で使用されている CPI と唾液検査の検査値との関連性を検討した結果、唾液検査は CPI の代用指標として使用できる可能性が示唆され、唾液検査の普及により集団健診における歯周病のスクリーニングにコスト削減等で大きく貢献できるものと思われる。

A. 研究目的

過去の研究成果により、唾液中の遊離ヘモグロビン(f-Hb)、乳酸脱水素酵素(LDH)が歯周病のスクリーニングに有用であることが示唆されてきた。また、その補助的診断項目として、AST(aspartate amino transferase)および ALT(amino alanine transferase)が有用であることが見出され、昨年度の報告書ではこれらの2種類の酵素が歯周病の初期状態の把握に有用であることを示した。本年度は、これらの唾液中酵素を指標とした診断が集団健診で使用されている CPI の代用になりうるか否かを検討した。

B. 材料と方法

対象者は、歯周疾患モデル事業とリンクして実施された東京都内の某事業所における健診受診者である。健診時に対象者に対して問診を行い、同時に唾液を採取した。対象者数は男性 686 名、女性 410 名の計 1096 名で、平均年齢は 39.43 \pm 9.81 歳

(21-66 歳)であった。さらに、佐賀県で行われた企業集団健診(男性 49 名、女性 54 名の計 103 名 平均年齢 40.75 \pm 11.35(22-71 歳))および沖縄県で行われた住民健診(男性 12 名、女性 34 名の計 46 名 平均年齢 29.35 \pm 6.15(18-39 歳))のデータについても分析を行った。

唾液の分析項目は AST、ALT、LDH および f-Hb ある。また、口腔内診査項目は現在歯数と CPI である。また、健診と同時にを行った生活習慣、自覚症状を含むアンケート調査の結果と CPI との関連性も検討した。

C. 結果

今回の調査対象の特性およびアンケート調査の度数分布を表 1 に示す。東京の事業所健診(東京データ)では、CPI4 の者は全く存在せず、さらに CPI3 の者の割合も低かった。沖縄住民健診(沖縄データ)では、対象者の年齢が低いいためか、CPI3 および 4 の者は存在しなかった。表 2 に CPI のコードとアンケート調査項目のクロス集計表を

示した。この結果から、生活習慣や自覚症状はある程度歯周病の病態と関連性を示していることが確認出来た。特に喫煙に関しては、東京データ、佐賀企業健診（佐賀データ）および沖縄データのいずれにおいても有意差が認められ、喫煙と歯周病の病態との関連性が強いことが明らかになった。

表 3 に各集団での唾液検査値の記述統計値と一元配置分散分析の結果を示した。明確な用量反応性は認められないものの、サンプル数の多い東京データでは統計学的有意差を認め、AST および ALT においては CPI の 0 とそれ以上では差が認められた。

次に診断の基準値を設定するために ROC 曲線の座標点から、感度と特異度が最も近くなる点を基準値として各検査項目の基準値を設定した。表 4 に結果を示した。それぞれの検査項目において感度、特異度はさほど高くはないものの、基準値には用量反応性が認められ、CPI の代表指標となりうる可能性が示唆された。また、陽性的中率並びに陰性的中率は罹患率に左右されるため、参考として東京データにおける CPI の各値における陽性的中率と陰性的中率を有病率とともに表 5 に示した。CPI の 3 と 4 をスクリーニングするには罹患率が低いため陽性的中率がかなり低い値となってしまうが、CPI の 1 以上であれば全ての検査において陽性的中率および陰性的中率が 0.5 以上のため、唾液による歯周病のスクリーニングが可能であることが示唆された。

D. 考察

多くの集団健診における歯周病のスクリーニングとして CPI が使用されているが、

CPI を求めるためには、歯科医師の診断が必要なこと、データの信憑性を向上させるためには、キャリブレーションが必要であることなど、スクリーニングに用いるには多くの問題が存在している。このようなことから、CPI に代わる簡便な調査方法が確立されれば、集団健診のコスト削減や集団健診の受診率向上などが期待される。その方法の一つとして唾液検査が考えられる。唾液の他にも、歯肉溝滲出液を用いる方法も考案されてはいるが、サンプル採取が歯科医療関係者以外の者が行うには困難が伴う。また、口腔内に存在する全ての歯肉溝からサンプルを採取することは現実的に不可能である。そこで代表歯のみからサンプルを採取する方法も考えられるが、代表歯が必ずしも口腔を代表しているとは言えない。以上の観点から、唾液による歯周病のスクリーニングが可能であれば、集団健診に貢献できる可能性は高い。

今回の調査では CPI と唾液検査値との関連性を検討したが、CPI はあくまでも歯周病のスクリーニング手法であるため、スクリーニング方法間の関連性の検討である。歯周病の病態を正確に把握した 6 点法や 4 点法によるデータと唾液検査値の関連性の検討は他の分担研究者の報告書で提示するが、今回のデータから、唾液検査は歯周病のスクリーニング手法の CPI の代用指標として使用できる可能性が高いことが示唆された。

E. 結論

歯周病をスクリーニングする際に、CPI の代用指標として使用できる可能性が示唆された。