

家が、異なるタイミングと形態で介入を行った場合、単一分野の専門家だけが介入した場合と比べて、禁煙成功率が2.5倍以上高まる<sup>19)</sup>ことから、歯科において喫煙の介入をすることは意義がある。

禁煙支援は、禁煙を希望する準備期以降の者が対象となり、行動科学療法やニコチン代替療法を併用したカウンセリングが中心であり時間や労力を要するため、日常診療では実施が困難であることから、セルフヘルプ教材の手渡し、禁煙支援サービスや専門外来の紹介のみの場合も多い。一方、禁煙指導は喫煙者全般を対象とし「タバコは体に悪いから喫煙してはいけない」と押しつづ的に指示するだけであったため、特に無関心期の喫煙者には効果を期待することはできなかった。

禁煙誘導は、直接的または間接的に禁煙意欲を高めて禁煙行動を誘発させ、簡便に多数の喫煙者にアプローチする方法をさす。強い被指示性を伴わないことが禁煙指導と異なる。喫煙者全般が対象となるが、無関心期・関心期を準備期・実行期へと、また、喫煙再開者を関心期以降へと誘導することが主となる。禁煙誘導には、米国禁煙治療ガイドラインの「5A」<sup>20)</sup>、映像や写真、呼気中一酸化炭素濃度や遺伝子型などのバイオマーカーが利用される。

禁煙誘導は、日常歯科診療（特に予防歯科診療）にも導入しやすいと考えられる。その理由として、①タバコに関連する口腔への悪影響とそれを話題にできる診療機会が豊富にある（表3）、②口腔保健指導では動機づけや助言が日常的に行われている、③プラーク除去の動機づけの手段として、患者自身の口腔で染色プラークをみせたり、位相差顕微鏡像を示す方法がよく使われている、などが挙げられる。歯科診療では、禁煙支援と禁煙誘導を診療室の状況に応じて組み合わせながら実施することが推奨される。そして、タバコ規制条約で示されるような禁煙治療の制度に歯科における介入が組み込まれるためには、歯科臨床における介入効果が実証される必要がある。

保健医療従事者が3分間の短い禁煙の助言をすることによって、6カ月以上の禁煙率は2%増加し、ニコチン代替療法を追加すると6%増加するとされる<sup>21)</sup>。わずかな増加ではあるが、全国の歯科診療施設を受診する喫煙者に日常的な介入が行われれば、大きなインパクトが得られる。口腔保健医療従事者の一人ひとりが、歯科診療所のみならず病院歯科や健診の場など喫煙者に接するさまざまな場面で、禁煙誘導や禁煙支援を積み重ねることは、

表3 歯科患者への禁煙誘導の内容と機会

(内容)	(機会)
口腔および治療への喫煙の悪影響の会話	日常診療の機会をとらえて繰り返し行う
審美的障害	初診時の問診
口臭	口腔診査の結果説明
口腔環境の変化	保健指導・疾患管理指導
粘膜の異常	補綴物装着時の管理指導
治療への影響	歯周治療実施前の説明
歯周病	インプラント予後の説明
歯の喪失	抜歯の術後の注意
将来の世代への影響	定期健診の経過説明

ほかのタバコ対策と連動して禁煙実行者を増加させることにつながると考えられる。ひいては、口腔疾患や歯の喪失を減少させることに貢献するだけでなく、タバコによる全身の健康被害を食い止めることになる。

#### 地域における禁煙活動への歯科医師の参加

タバコ規制条約の基本原則の説明（表1）の4番目には、「市民社会の参加は、この条約及び議定書の目的の達成に不可欠である」とある。ここでは、組織として喫煙問題に取り組む以前から、喫煙問題に関心のある個人が自主的に問題に取組み、その活動に複数の歯科医師が発起人となり、積極的な活動を続け重要な役割をはたしている事例を紹介する。

山形県では、男性の平均喫煙率が全国平均よりも高く<sup>8)</sup>、がん・脳卒中・心臓病に代表される生活習慣病による死亡が常に全国のワースト10以内にランクされる現状<sup>9)</sup>がある。そこで、今後喫煙対策の推進はますます重要となるであろうと考え、喫煙に関するさまざまな問題を解決すべく、研究会が発足した。

山形県喫煙問題研究会<sup>10)</sup>の目的は、山形県における喫煙の問題点を明らかにし、山形県民の健康増進のため禁煙の啓発を行い、喫煙対策や防煙教育を推進することにある。また、これらの目的を達成するため、①喫煙問題に関する調査研究、②喫煙防止教育を推進するための事業、③会員相互の親睦を図るための事業、の諸活動を行っている。

山形県内で喫煙問題に関心を持ち、かつ本会の趣旨に賛同する者が会員となり、全国禁煙教育研究会開催、青少年の喫煙問題への対応、禁煙指導研修会・公開シンポ

<sup>8)</sup> 山形県健康福祉部保健業務課：山形県の喫煙の現状（平成11年），<http://www.pref.yamagata.jp/kf/hoken/688700/kituennogenjou%202.pdf>（2004年12月1日アクセス）。

<sup>9)</sup> 山形県健康福祉部保健業務課：主な死因の死亡数・死亡率都道府県別順位（平成14年），<http://www.pref.yamagata.jp/kf/hoken/344800/2004yamagata%20no%20seikatusyuukanbyou4.pdf>（2004年12月1日アクセス）。

ジウム開催などの活動と行ってきた。副会長である山形大学教授をはじめ、世話人 11 名のうち 4 名が歯科医師である。医科も歯科も同じ目線で喫煙問題に日常的に取り組んでいる。

会の構成は、医師、歯科医師、薬剤師、保健師、助産師、看護師、養護教諭、警察官、行政職員、一般市民と幅広い職種の集まりになっていて、メーリングリストなどでの情報交換も盛んになってきた。学校での防煙授業に使用する教材づくりのための教育グループ、学校・団体・企業などの講演や臨床相談を企画担当する禁煙支援グループ、各施設における積極的な禁煙を推進するための健康増進法グループ、それぞれの班が役割分担をして活動を行った。また、県医師会への働きかけから禁煙推進委員会が設置されて、2003 年 10 月には医師会・歯科医師会・薬剤師会・看護協会で四師会禁煙推進委員会を立ち上げ、積極的な活動が始まった。

### 広島県の歯科からの禁煙支援対策と 職種組織間連携

次にタバコ規制条約の基本原則である市民社会の参加に関連して、歯科医師会が積極的に活動に参画し、医療組織間の活動の連携を行政が仲介した事例を紹介する。

広島県では、2001 年度から歯科からの禁煙支援対策に取り組んでいる。まず、「歯科からの禁煙支援プログラム構築事業」を実施し、口腔状況と喫煙などとの関連を調査した。広島県で実際に禁煙支援を進めていくうえで、広島県の情報が必要であったからである。調査対象は県内の事業所従業員 819 名で、口腔状況調査と質問紙調査を 2001 年 9 月に行った。

事業所男性の喫煙の状況は、50% が喫煙者、30% が非喫煙者、20% が禁煙者（過去にタバコを吸っていたがやめた人）であり、年代別にみると 35 から 44 歳で喫煙者の割合は高かった。喫煙と歯周病との関係では、喫煙者で進行した歯周病に罹患している者の割合が高く、喫煙者・非喫煙者・禁煙者の間で有意差が認められた。ニコチン依存度が低い者は 10% 程度と少なく、禁煙のステージは 55 歳以上の年代を除くと、どの年代も 30% ほどが未企画期であり、全体で 67% に禁煙の意志が認められた。これらの調査結果から、歯科診療所を受診する喫煙者の 67% に積極的な禁煙支援のアプローチが必要であると考えられた。これらの割合から広島県における歯科受診者に占める喫煙者数を推計し、全体の喫煙者数をもとに計算すると、歯科診療所において効果的な禁煙支援

が期待できる企画期および準備期の者が禁煙に成功した場合、喫煙率が最大 10% 低下する可能性が示された。このことから、かかりつけ歯科医である地域の歯科保健医療従事者は、口腔保健医療の観点から喫煙対策の役割を担う必要があると考え、次年度以降、①禁煙支援もできる歯科診療所のイメージアップ、②地域の歯科医師の喫煙と禁煙支援に対する意識と意欲の調査、③かかりつけ歯科医を対象とした禁煙支援に関する研修、④歯科だけで完結できることではないので、他職種との連携づくりの観点から、禁煙の専門家に紹介できる連携システムの構築、⑤歯科診療所における禁煙支援の効果の確認と禁煙支援マニュアルの作成、といった 5 つの対策について優先順位をつけ、できることから行った。

2002 年度は、「歯科医師の喫煙と禁煙支援に関するアンケート調査」を県歯科医師会会員 1,536 名に行った（図 2）。回収率は 42.6% (655 名) で喫煙者が回答しなかった可能性が考えられた。喫煙状況は、20% が喫煙者、50% が禁煙者、30% が非喫煙者であり、年代があがるに従い、喫煙者の割合は低下した。禁煙に関する考えでは、禁煙支援を「全ての喫煙者にすすめる」が 40%、「療養上必要な人のみ」が 30%、「介入すべきではない」が 20% だった。歯科診療所における禁煙支援に関する考えは、「積極的に取り組む」と「希望する患者のみ」がいずれも 30%、「情報提供のみ」が 40% であった。

さらに、歯科からの禁煙支援ができる体制を整えるため、禁煙支援指導ができる歯科医師および歯科衛生士を養成する「禁煙支援指導歯科医等養成事業」を実施した。歯科医師コースは、連続 2 日間の研修を行い、次いで、歯科医師コースを受講した歯科診療所に所属する歯科衛生士に対し 2 日間の研修を行った。研修会を受講した 55 の歯科医療機関を禁煙支援指導歯科医療機関として認定し、認定ステッカーが診療所内に掲示され、県歯科医師会ホームページから住民がアクセスできるようになっている。また、下敷きに禁煙支援指導内容を記したマニュアルを作成し、歯科医師が診療室の机に置いていつでもみることができるようにした。

2003 年度は、これまでの事業結果を踏まえ、他職種などとの連携に主眼をおいた「歯科診療所における禁煙支援指導モデル事業」を実施した。1 つの地区歯科医師会をターゲットにして、モデル事業 5 カ月間の対象者 62 名のうち、禁煙達成者は 22 名で、禁煙成功率は 35% であった。この事業では、ニコチン製剤の処方が必要な場合に医科への紹介を行う連携を重視した事業であったが、医

\*10 山形県喫煙問題研究会：http://www.y-smokefree.com/ (2004 年 12 月 1 日アクセス)。

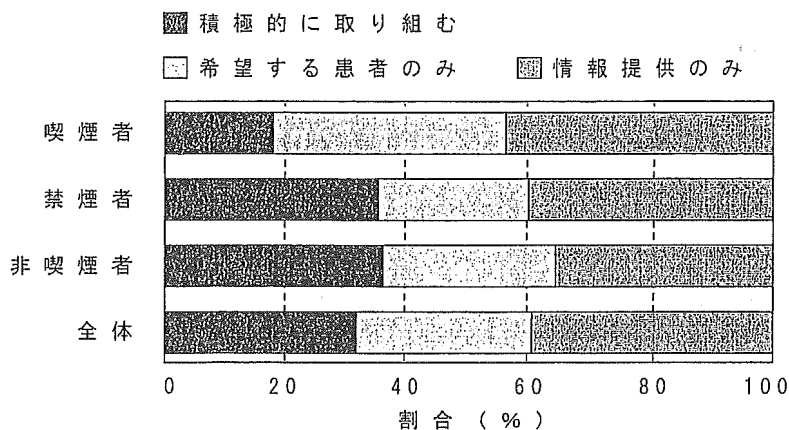


図2 歯科診療所における禁煙支援に関する考え（歯科医師の喫煙歴別）

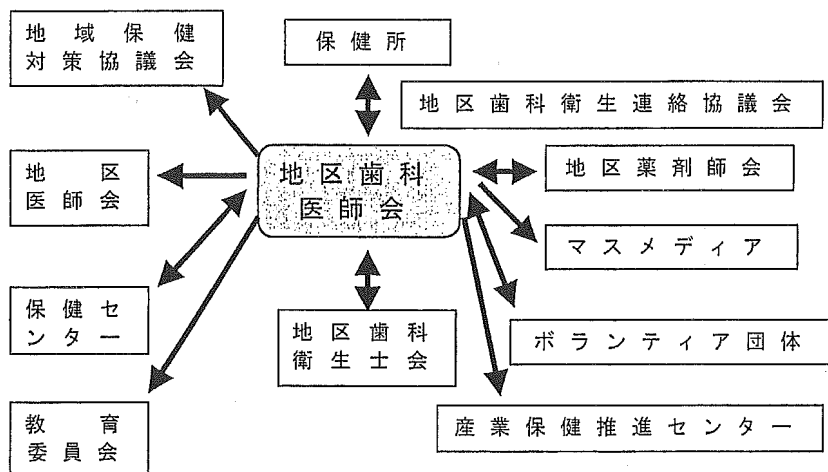


図3 歯科からの禁煙支援における連携のイメージ

科への紹介がなかなかうまくいかなかったり、薬局との連携も難しかったりするなど、医療機関連携に関して多くの課題が浮き彫りとなった。

このモデル事業の実施に際して、まず、歯科からの連携のイメージ(図3)づくりを行った。イメージでは、禁煙支援指導歯科医(研修により養成された歯科医師)だけでは全てに対応できないので、禁煙支援協力歯科医を募った。広島県では、医科には禁煙クリニック、薬剤師会には薬剤師禁煙支援アドバイザーが設置されている。このようなほかの医療従事者との連携に重点をおいた取り組みは、今回十分機能しなかったため、今後さらに検討する必要がある。また、医師会、歯科医師会、薬剤師会の連携をさらに発展・強化させていくという観点から、企業、教育委員会、市町村、ボランティア団体などとの連携も考えていく必要があると思われる。

広島県で歯科における禁煙支援が円滑に実施できた理

由として、2002年7月に県歯科衛生連絡協議会(県、県歯科医師会、県教育委員会、広島市、広島大学で構成)の中に、「禁煙支援推進協議会」が設置されたことは重要である。協議会では、これまで述べた事業の評価・運営を行っている。また、広島県には、医師会、歯科医師会、薬剤師会、看護協会、環境保健協会、行政、企業などから構成された「広島県禁煙支援ネットワーク」がある。これは、健康日本21の地方計画の中の禁煙対策を積極的に推進するため、2002年8月に設立された組織で、未成年者喫煙率と妊産婦喫煙率0%を達成することを目標としている。歯科からの禁煙支援に取り組んでいくうえで、このネットワークの存在は非常に大きい。

今後、歯科からの禁煙支援をより一層推進していくためには、禁煙支援を行う歯科医療機関の拡大、医科や薬局などとの連携の強化、喫煙者に対する環境整備と情報提供、歯科医療機関でのニコチン製剤の処方制限の緩和

などが必要であろうと考えられる。

### まとめ

2004 度中にタバコ規制条約が発効する。そして、翌年度には厚生労働省においてタバコ対策担当者の増員が要求されている。山形県の取り組みや、広島県の組織間の取り組みにみられるように、歯科を含む保健医療従事者間の連携を円滑に図ることが、タバコ規制条約を実効性のあるものにするために重要であることがみえてきた。

歯科は今、全身の健康づくりに口腔の健康が重要であることを住民・社会に向けて発信しはじめた。一方、タバコ対策の先進的な取り組み事例では、口腔の専門家と全身の専門家間の連携が重視されること、さらに、タバコ規制条約では市民団体との協調した対策推進も謳われている。したがって、タバコ対策は、口腔保健医療従事者自身が、現在まで培われてきた口腔の健康と全身の健康の視点の共有化と健康の専門家としての認識を、行動として目にみえる形で実践できる新しい機会になるかもしれない。そのためには、タバコ対策のブロックを積み上げる行動を始めようという認識を、口腔保健医療従事者ひとり一人が形成していくことが、行動の最初のステップとなるに違いない。

緊急の問題がひとつ増えた。2003 年秋にガムタバコが世界で初めて首都圏で発売されたが、関係者の迅速な抗議活動により拡大は一旦防止された。しかし、2004 年 12 月に東京都内でキャンペーンが再開された。配布サンプルには「かみたばこの使用は、あなたにとって口腔がんの原因の 1 つとなり、心筋梗塞・脳卒中の危険性を高めます」と新しい注意文言が採用された。ところが「成分はすべて日本の食品衛生法でその使用が認められた成分です」「虫歯の原因になりにくい甘味料(キシリトール)を使用しています」なども記載された。口腔がんの原因となるものに「う蝕の原因となりにくい」と併記してよいものか、口腔の専門家は問題とする必要がある。

### 文 献

- 1) World Health Organization, WHO Tobacco Free Initiative, Noncommunicable Diseases and Mental Health Cluster: Building blocks for tobacco control: A handbook. (Tools for advancing tobacco control in the 21st century). Publications of the World Health Organization, Geneva, 2004, p 1-289.
- 2) Tomar SL, Hanioka T, Wickholm S et al.: Tobacco use and oral health effects in different world populations. J Dent Res (Abstr. #165), 2001.
- 3) Burns D, Hatsukami D, Gelskey S et al.: Tobacco use, prevention and cessation. J Dent Res (Abstr. #4141), 2002.
- 4) Kaufman N, Connolly G, Gupta PK et al.: The impact of policies on tobacco use: An international perspective. J Dent Res

(Abstr. #690) 2003.

- 5) The American Dental Education Association: Tobacco and oral disease: Strategies for dental professional interventions. J Dent Educ 65: 301-384, 2001.
- 6) 中村正和: 禁煙治療の制度化の必要性と欧米の動向. 公衆衛生 68: 948-952, 2004.
- 7) 尾身 茂: Tobacco Free Japan 「ニッポンのたばこ政策への提言」の発刊によせて, 監修: 望月友美子, Tobacco Free Japan 「ニッポンのたばこ政策への提言」. 東京, インクス, 2004, 4-5 頁.
- 8) 古賀敏比古: 6. その他の口腔疾患とその予防 3) 口腔腫瘍, 宮武光吉, 末高武彦, 渡邊達夫ほか編, 口腔保健学第 2 版. 医歯薬出版, 東京, 2002, 181-182 頁.
- 9) Shizukuishi S, Hayashi N, Tamagawa H et al.: Lifestyle and periodontal health status of Japanese factory workers. Ann Periodontol 3: 303-311, 1998.
- 10) Korean Association of Smoking and Health: 12. Anti-smoking activities of medical doctors and dentists. In: Tobacco control policy and anti-smoking activities in Korea. Seoul, 2004, p 24-25.
- 11) USDHHS: Periodontitis. In: The health consequences of smoking: A report of the surgeon general. USDHHS, Washington DC, 2004, p 732-736.
- 12) DiClemente CC, Prochaska JO, Fairhurst SK et al.: The process of smoking cessation: An analysis of precontemplation, contemplation and preparation stages of change. J Consult Clin Psychol 59: 295-304, 1991.
- 13) いきいき府民健康づくり推進委員会: 健康おおさか 21, 大阪, 2001, 28 頁.
- 14) Fiore MC, Bailey WC, Cohen SJ et al.: Treating tobacco use and dependence: Clinical practice guideline. US Department of Health and Human Services, Rockville, MD, 2000, p 56-57.
- 15) Lancaster T, Stead L, Silagy C et al.: Effectiveness of interventions to help people stop smoking: Findings from the Cochrane Library. BMJ 321: 351-358, 2000.
- 16) Macgregor IDM: Efficacy of dental health advice as an aid to reducing cigarette smoking. Br Dent J 1996; 180: 292-296.
- 17) Smith SE, Warnalulasuriya KAAS, Feyerabend C et al.: A smoking cessation program conducted through dental practices in the UK. Br Dent J 185: 299-303, 1998.
- 18) Cohen SJ, Stookey GK, Katz BP et al.: Helping smokers quit: A randomized controlled trial with private practice dentists. J Amer Dent Assoc 118: 41-45, 1989.
- 19) Fiore MC, Bailey WC, Cohen SJ et al.: Treating tobacco use and dependence: Clinical practice guideline. US Department of Health and Human Services, Rockville, MD, 2000, p 61-62.
- 20) Fiore MC, Bailey WC, Cohen SJ et al.: Treating tobacco use and dependence: Clinical practice guideline. US Department of Health and Human Services, Rockville, MD, 2000, p 28-31.
- 21) Raw M, McNeill A, West R: Smoking cessation guidelines for health professionals. A guide to effective smoking cessation interventions for the health care system. Thorax 5 (Suppl): 1-38, 1998.

著者への連絡先: 埴岡 隆 〒814-0193 福岡県福岡市早良区田村 2-15-1 福岡歯科大学口腔保健学講座

TEL・FAX: 092-801-0616

E-mail: haniokat@college.fdcnet.ac.jp

Reprint requests to T. HANIOKA, Department of Preventive and Community Dentistry, Fukuoka Dental College, 2-15-1 Tamura, Sawaraku, Fukuoka 814-0193, Japan

歯科衛生士臨床を支える

# Research Library

## 第6回 どの生活習慣要因が歯周病にもっとも強く影響を及ぼすか

西田伸子、雫石 聡(大阪大学大学院歯学研究科予防歯科学教室)

キーワード：歯周病、生活習慣、喫煙、肥満

### はじめに

口腔の健康を保つことは、食事や会話を楽しむなど、豊かな生活を送るために大切です。う蝕および歯周病などの歯科疾患は、発症、進行により歯の喪失につながることから、食生活や社会生活などに支障をきたし、ひいては全身の健康に影響を与えると考えられています<sup>1)</sup>。近年、

拔牙の原因として歯周病が多くの割合を占めるようになり、歯周病を予防することが、今後ますます重要な課題となるものと考えられます。

歯周病は、多要因性疾患であり、歯周病細菌などの病原因子、免疫機能などの宿主因子とともに、環境因子として生活習慣の重要性も指摘さ

れています。

本研究では、企業従業員を対象に、歯周診査および喫煙、肥満、飲酒要因などの生活習慣を調査し、歯周病に対するリスク評価を行い、どの生活習慣要因が歯周病のもっとも大きいリスクとなっているかを検討しました。

### 対象・方法

#### 1. 対象者

大阪府下某企業従業員372名(1998年度定期健康診断受診者、平均年齢40.5歳)。

#### 2. 歯周診査

歯科医師が、人工照明下で圧力調整式歯周プローブを用い、対象者の第三大臼歯を除く全歯を診査し、3.5mm以上の歯周ポケット深さを有する歯を歯周病有病歯としました。歯周病有病歯数を現在歯数で割り、

百分率評価した歯周病有病歯率を解析に使用しました。

#### 3. 生活習慣要因の調査

生活習慣要因は、森本らの生活習慣指数<sup>2)</sup>の項目に基づき、喫煙、飲酒、運動、朝食、栄養バランス、労働時間、睡眠時間、自覚的ストレスなどを含めた質問票により評価しました。喫煙関連要因は、現在喫煙または非・元喫煙といった喫煙習慣と、喫煙量としてpack-years(生涯喫

煙量)を調べました。飲酒関連要因は、飲酒の頻度、種類と量をもとに、1日あたりの純アルコール量に換算<sup>3)</sup>して評価しました。口腔保健行動は、歯磨き回数、歯頸部歯磨き方法、補助器具の使用などの口腔保健行動を含む34項目からなる質問票により評価しました。食生活関連要因としての肥満度は、Body Mass Index(以下、BMI)を算出し、WHO<sup>4)</sup>の肥満の定義を参考に評価しました。

### 結果・考察

歯周病と生活習慣要因との関連性を調べるために、多重ロジスティッ

ク回帰分析を行った結果、喫煙習慣、肥満度、アルコール摂取量および年

齢が、歯周病と統計的に有意な関連性を示しました(図1)。現在喫煙者

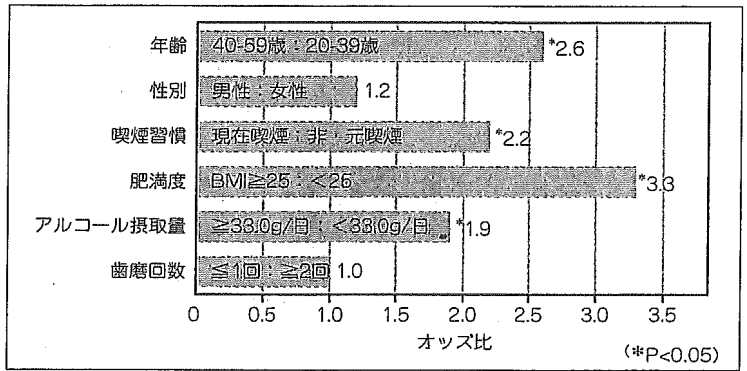


図1 各要因の歯周病に対するオッズ比 (参考文献7より引用)。

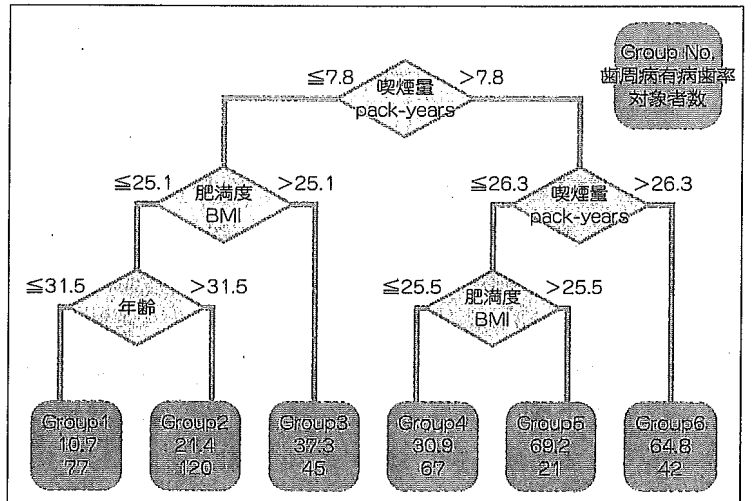


図2 CARTによる歯周病に対する生活習慣要因の探索 (参考文献6より引用)。

は、非・元喫煙者の2.2倍、BMI 25以上の肥満者は、非肥満者の3.3倍、また、33g/日以上アルコール摂取者は、そうでない者の1.9倍の歯周病リスクを有していると考えられます。これらの結果は、喫煙などの生活習慣要因が、年齢や性別などを調整しても、歯周病に対し有意に独立して影響を及ぼしていることを示しています。

次に、どの生活習慣要因がもっとも大きい歯周病のリスクであるかを調べるために、回帰樹木統計解析法(以下、CART)<sup>5)</sup>による分析を行いました。CARTでは、影響力の強い順に枝分かれます。本研究におい

て、歯周病に対する影響力の強さは、喫煙量、肥満度、年齢の順でした(図2)。たとえば、Group 6には、26.3 pack-yearsより多い喫煙量の重度喫煙者が含まれますが、この集団は非常に高い歯周病有病歯率を示しました。一方、Group 4および5には、7.8~26.3 pack-yearsの中程度喫煙者が含まれますが、この集団はBMI 25.5をカットオフ値としてさらに分岐し、喫煙量の次に肥満度の影響を受けていることが示唆されました。また、Group 1、2および3には、7.8 pack-years以下の非・軽度喫煙者が含まれますが、これもBMI 25.1をカットオフ値としてさらに分

岐しました。これらの結果は、いずれも、喫煙量に次いで肥満度が歯周病に対し影響を及ぼしていることを示唆しています。ただし、Group 6のような重度喫煙者においては、もはや肥満度の影響を受けるまでもないということになります。

また、喫煙量や肥満度の増加とともに、歯周病に対するオッズ比も増加し、量-反応関係が認められました(P for trend <0.05、図3および図4)。さらに、喫煙、肥満、飲酒要因の中で、2つ以上の悪習慣を持つ者では、歯周病に対するリスクが8倍も増加していました(図5)。

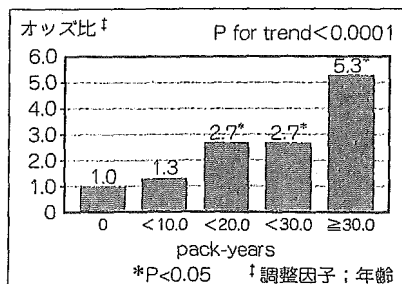


図3 喫煙量と歯周病との量-反応関係(参考文献6より引用)。

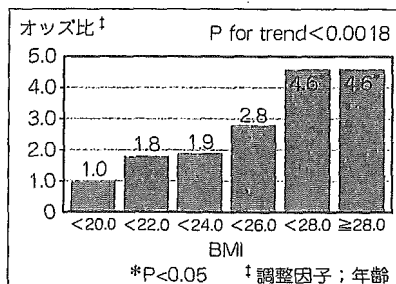


図4 肥満度と歯周病との量-反応関係(参考文献6より引用)。

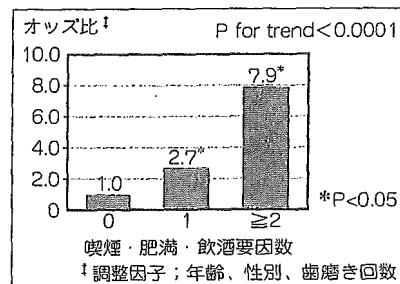


図5 喫煙・肥満・飲酒要因数と歯周病との関係(参考文献6より引用)。

## まとめ

企業従業員の生活習慣と歯周診査を行い、それらの関連性を解析した結果、歯周病には種々の生活習慣関連要因が影響しており、中でも喫煙がもっとも大きいリスクであることが明らかとなりました。

生活習慣要因、特に、喫煙<sup>6)</sup>、肥満<sup>6)</sup>および飲酒習慣<sup>7)</sup>と歯周病との関連性について、さまざまな研究が行われてきました。肥満と密接に関連している糖尿病患者に歯周病有病者が多いことはすでに広く知られており、歯周病は糖尿病の第6番めの合併症であるといわれています<sup>8)</sup>。さらに、喫煙者や糖尿病患者の歯周治療に対する歯周組織の反応性は不

良であることもよく知られています。

歯周病の予防には、口腔清掃や歯石除去などのセルフケアおよびプロフェッショナルケアなど感染性因子への対策が欠かせません。しかし、歯周病は、喫煙や肥満のような生活習慣要因とも関連していることから、口腔衛生指導の際、患者さんの生活習慣の改善について行うことも重要です。たとえば、歯周病治療の一環として喫煙の悪影響を話したところ、患者さんが禁煙に取り組むきっかけになったという話も耳にします。

今、患者さんも医療従事者も、

「科学的根拠」の知識を持ち、それに基づいて話し合い、治療方針を決めていくというEBMが求められるようになってきています。本稿では、生活習慣と歯周病というトピックスを解説しましたが、「健康日本21」でも提唱されているように、現在、歯周病予防のための生活習慣の改善を実際の臨床現場で実施していくことが求められています。そのためには、歯科衛生士として、自分の得た知識、技術や態度を、患者さんに最大限還元していくふうや努力が必要となり、そのことが歯科衛生士としての専門性の向上にもつながるのではないかと思います。



歯周病の予防には、口腔清掃や歯石除去のみでなく、生活習慣の改善も大切なのですね。

### 参考文献

1. 健康日本21企画検討会. 歯の健康. 健康日本21 (21世紀における国民健康づくり運動について). 東京: 健康・体力づくり事業財団, 2000: 127-136.
2. Kusaka Y, Kondou H and Morimoto K. Healthy lifestyles are associated with higher natural killer cell activity. Prev Med 1992; 21 (5): 602-615.
3. 健康日本21企画検討会. アルコール. 健康日本21 (21世紀における国民健康づくり運動について). 東京: 健康・体力づくり事業財団, 2000: 121-125.
4. World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation of obesity. Geneva: World Health Organization, 1997.
5. Breiman L, Friedman JH, Olshen RA, Stone CJ. Classification and Regression trees. Belmont: Wedsworth International Group, 1984: 216-265.
6. Nishida N, Tanaka M, Hayashi N, Nagata H, Takeshita T, Nakayama K, Morimoto K, Shizukuishi S. Determination of Smoking and Obesity as Periodontitis Risks Using Classification and Regression Tree Method. J Periodontol 2005; 76 (6): 914-919.
7. Nishida N, Tanaka M, Hayashi N, Nagata H, Takeshita T, Nakayama K, Morimoto K, Shizukuishi S. Association of ALDH (2) genotypes and alcohol consumption with periodontitis. J Dent Res 2004; 83 (2): 161-165.
8. Löe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. Diabetes Care 1993; 16 (1): 329-334.

# う蝕・歯周病のプロセスに対する 治療介入としてのリスクアセスメント

## 第 1 回

## 一般開業歯科医院における 歯周病のリスクコントロール(前)

執筆コーディネーター：伊藤 中<sup>\*1</sup>

執筆：足本 敦<sup>\*2</sup> / 野崎剛徳<sup>\*3</sup> / 埴岡 隆<sup>\*4</sup> / 村上伸也<sup>\*3</sup> (50音順)

<sup>\*1</sup>大阪府開業 伊藤歯科クリニック

連絡先：〒567-0828 大阪府茨木市舟木町20-20 岩井ビル1F

<sup>\*2</sup>ワイエイオーラルヘルスセンター

連絡先：〒683-0853 鳥取県米子市両三柳107

<sup>\*3</sup>大阪大学大学院歯学研究科口腔分子免疫制御学講座

連絡先：〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-8

<sup>\*4</sup>福岡歯科大学口腔保健学講座

連絡先：〒814-0193 福岡県福岡市早良区田村2-15-1

Periodontal Risk Assessment for the General Practitioner

Ataru Ito, Atushi Ashimoto, Takenori Nozaki, Takashi Hanioka, Shinya Murakami

### コラム

### 喫煙の口腔影響が禁煙により改善するエビデンス

禁煙の効果については、研究で明らかになったものと常識的に考えられるものがある。禁煙の歯面着色への影響は後者の例である。EBMの普及により、科学的な根拠のレベルが研究デザインの高さや報告数により異なることへの一般臨床医の理解が深まってきた。

図 C-1 は断面調査による歯肉メラニン色素沈着の有症者率を2つの事業所で比較したものである<sup>1</sup>。工場勤務者の元喫煙者の有症者率が非喫煙者に近いことから、禁煙すると色素沈着が軽減することが考えられる。他の断面調査でも禁煙期間3年の者の有症者率が非喫煙者のレベルまで低下したことから、禁煙から3年するとメラニン色素沈着が軽減すると推測される。米国大規模断面調査の分析では、歯周病リスクは禁煙後11年以上と非喫煙者と同等のレベルであった。

なお、図 C-1 では歯肉メラニン色素有症者率は事務所勤務者の元喫煙者や非喫煙者で工場勤務者より高い。理由として、受動喫煙の影響が推測される<sup>2</sup>。このように断面調査では、禁煙後の他の影響が分析に反映されにくい。一方、たとえば英国医師の大規模追跡研究では、70歳での生存率が喫煙継続医師と比べて20%高かったが、30歳で禁煙した医師は非喫煙医師と同等になった。この追跡研究は信頼性の高い研究デザインだが、結果がわかるまでに実に40年が必要であった。

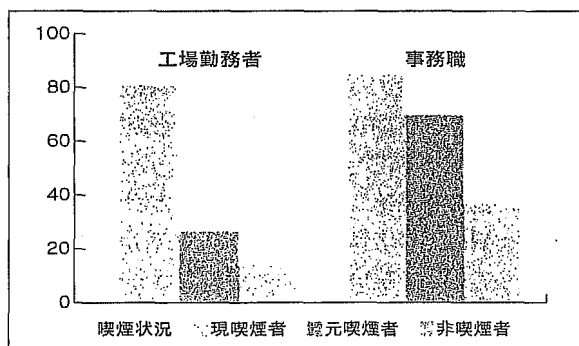


図 C-1 2つの作業形態が異なる事業所での歯肉メラニン色素沈着有症者(%)の比較。禁煙により有症者率は低下する。元喫煙者と非喫煙者での有症者率の違いの理由は、職場での受動喫煙が推定される(文献1より引用改変)。

さて、禁煙後の口腔への影響についての追跡研究は始まったばかりであるが、観察期間は短期でも信頼性のさらに高い無作為割付介入研究の成果が報告されている。①喫煙者ではプラークの蓄積が同等なのに血管性の炎症、具体的には歯肉出血、BOP、歯肉溝滲出液が抑制されることが示されている。これらが禁煙により回復するかどうか介入研究により調べられた。図 C-2 は、歯肉血流量が禁煙後増加したり、歯肉溝滲



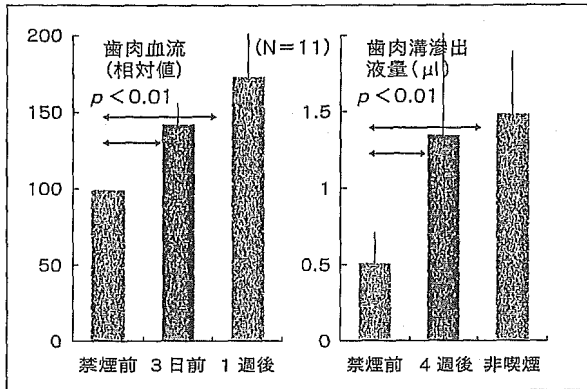


図 C-2 禁煙後の歯肉血流(左)と歯肉溝滲出液量(右)の変化。禁煙により血流量, 歯肉溝滲出液量ともに増加する。歯肉溝滲出液量は非喫煙者と同等レベルになる。(文献3より引用改変)

出液量が非喫煙者のレベルに回復したりすることを示している<sup>3</sup>。②図 C-3 は, 禁煙後4~6週にプラーク量が低下したにもかかわらず, BOPが増加することを示している<sup>4</sup>。禁煙に伴うこうした現象は一見して身体に悪いように受け止められるが, 炎症反応は生体の修復機能であり障害を受けていた機能が禁煙により正常化すると説明できる。③ラットに実験的に歯周炎を導入しタバコ煙を吸引させると歯槽骨の吸収が促進するが, タバコ煙の吸引を中止させると吸引を60日間継続させた場合と比べて骨吸収が少なくなり, 骨密度も向上した(図 C-4)<sup>5</sup>。④喫煙者では歯周治療の効果が劣ることは知られているが, 歯周治療の開始前に禁煙すると, 喫煙を継続したり再開したりした場合より治療効果が向上することが初めて確かめられた(図 C-5)<sup>6</sup>。

禁煙が困難であることをニコチン依存症と捉え, 医師による禁煙指導の保険適用が本年4月より認められようとしている。禁煙カウンセリングサービスの提供機会がある歯周治療は, 救命年延長への経済効率が優れている禁煙治療の普及の動きの中で, 重要な位置にあると思われる。

(埴岡 隆: 福岡歯科大学口腔保健学講座)

参考文献

1. 埴岡隆, 田中宗雄, 玉川裕夫. 喫煙習慣が関係する歯肉メラニン色素沈着の疫学的研究. 口腔衛生学会雑誌 1993; 43(1): 40-47.
2. Hanioka T, Tanaka K, Yuuki K. Association of melanin pigmentation in the gingiva of children with parents who smoke. Pediatrics 2005; 116(2): 186-190.
3. Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H. Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. J Clin Periodontol 2004; 31(4): 267-272.

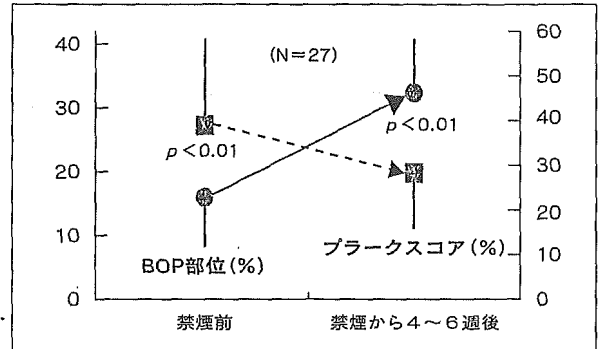


図 C-3 禁煙後の BOP 変化。プラークが減少しても禁煙後に出血が増加する。(文献4より引用改変)

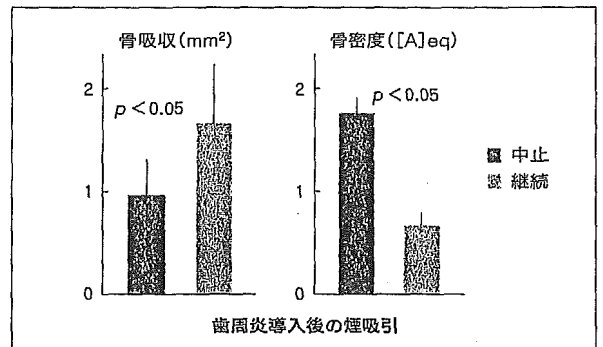


図 C-4 タバコ煙吸引ラットの歯槽骨の骨吸収量と骨密度の吸引中止60日後の変化。タバコ煙中止により骨吸収が緩和される。(文献5より引用改変)

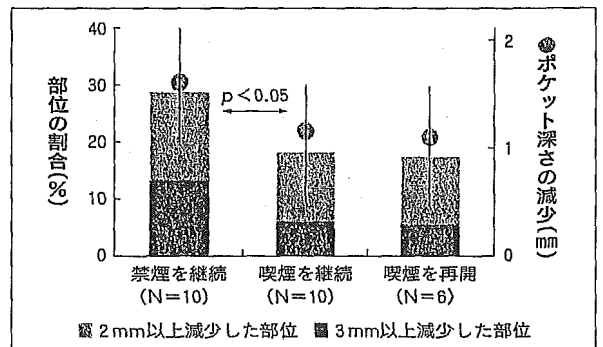


図 C-5 歯周治療前に禁煙した場合と, 喫煙を継続および再開した場合との1年後の歯周治療効果の比較。禁煙を継続すると治療効果が向上する。(文献6より引用改変)

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

SCIENCE @ DIRECT®

Molecular Immunology 42 (2005) 1259–1263

**Molecular  
Immunology**
[www.elsevier.com/locate/molimm](http://www.elsevier.com/locate/molimm)

Short communication

## Murine monoclonal antibody which can distinguish cystatins SA1 and SA2

Taichi Ito<sup>a,b</sup>, Akiyo Komiya-Ito<sup>a,b</sup>, Katsuji Okuda<sup>a,c</sup>, Kiyoshi Minaguchi<sup>a,d</sup>,  
Eiichi Saitoh<sup>e</sup>, Satoru Yamada<sup>a,b</sup>, Tetsuo Kato<sup>a,c,\*</sup>

<sup>a</sup> Oral Health Science Center, Tokyo Dental College, 1-2-2 Masago, Mihama-ku, Chiba 261-8502, Japan<sup>b</sup> Department of Periodontics, Tokyo Dental College, 1-2-2 Masago, Mihama-ku, Chiba 261-8502, Japan<sup>c</sup> Department of Microbiology, Tokyo Dental College, 1-2-2 Masago, Mihama-ku, Chiba 261-8502, Japan<sup>d</sup> Department of Forensic Odontology, Tokyo Dental College, 1-2-2 Masago, Mihama-ku, Chiba 261-8502, Japan<sup>e</sup> Department of Biochemistry, Nippon Dental University, School of Dentistry at Niigata, 1-8 Hamaura-cho, Niigata 951-8580, Japan

Received 13 October 2004

Available online 8 January 2005

### Abstract

To develop a diagnostic trial enabling the selective examination for a target cystatin in human body fluids, we attempted to prepare monoclonal antibodies against human cystatin SA1 (originally cystatin SA) and its variant form (cystatin SA2). BALB/c mice were immunized with recombinant (r-) cystatins SA1 and SA2. Two monoclonal antibodies designated Cys3F11 and Cys2E5 were selected. By ELISA analyses, the Cys2E5 was shown to react with r-cystatin SA2 but also somewhat with r-cystatin SA1 (22% cross-reactivity) and with plasma cystatin C (18% cross-reactivity), indicating a high specificity for cystatin SA2. The Cys3F11 reacted not only with r-cystatin SA1 but also with r-cystatin SA2 (89% cross-reactivity) and plasma cystatin C (47% cross-reactivity). This finding was further emphasized by immunoblotting of human submandibular–sublingual saliva samples. ELISA additivity test suggests that the two monoclonal antibodies bind to distinct epitopes. In conclusion, we have succeeded in producing two antibodies that discriminate the structural differences between salivary cystatins S and SN, which share more than 90% identity in amino acid sequence with cystatin SA.

© 2004 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Cystatin SA; Saliva; Monoclonal antibody; Western blot

### 1. Introduction

The animal cysteine protease inhibitors belonging to the cystatin superfamily and comprised of at least three families (family 1, family 2, and family 3) are believed to regulate endogenous papain-like cysteine proteases such as the lysosomal cathepsins in order to prevent inappropriate proteolysis, which could be harmful or lethal (Turk et al., 2002). In addition to modulating such protease activities, these cystatins should also be capable of controlling the cysteine proteases released from various microorganisms and inflammatory cells (Turk et al., 2002).

The human cystatins of family 2 have been shown to consist of at least 11 members (SN, SA, S, C, D, E/M, F/leukocystatin, 8, 9/testatin, 11, and cystatin like 1 precursor protein), 10 of which are produced by the genes *CST1*, *CST2*, *CST3*, *CST4*, *CST5*, *CST7*, *CST8*, *CST9*, *CST11* and *CSTL1* clustered on chromosome 20p11.21 (Deloukas et al., 2001; GenBank no. NG000839)—the cystatin gene family (Saitoh et al., 1987). Cystatin E/M, however, is produced by the *CST6* gene on chromosome 11p13 (Stenman et al., 1997). Cystatins SN, SA, and S are predominantly expressed in human submandibular gland and sublingual gland (Isemura et al., 1984, 1986, 1987, 1991; Saitoh and Isemura, 1993); however, cystatin D is found in the parotid gland (Freije et al., 1993). Cystatin C and cystatin E/M are widely expressed ubiquitously in various human tissues (Abrahamson, 1994;

\* Corresponding author. Tel.: +81 43 2703742; fax: +81 43 2703744.

E-mail address: [tekato@tdc.ac.jp](mailto:tekato@tdc.ac.jp) (T. Kato).

Abrahamson et al., 2003; Sotiropoulou et al., 1997; Ni et al., 1997), while cystatin F (leukocystatin) is abundant in spleen and peripheral blood leukocytes (Ni et al., 1998; Halfon et al., 1998). Three recently discovered inhibitors (cystatins 8, 9, and 11) are predominantly expressed in the male reproductive tract (Cornwall et al., 1999; Eriksson et al., 2002; Hamil et al., 2002).

In human saliva, five cystatins (S, SA, SN, C, and D) have been identified (Saitoh and Isemura, 1993; Freije et al., 1993; Abrahamson, 1994). Cystatins in saliva have been shown to inhibit the growth of microorganisms such as *Porphyromonas gingivalis* and infectious viruses including coronavirus, poliovirus, and herpes simplex virus, suggesting that salivary cystatins may play a role as defense factors (Blankenvoorde et al., 1996; Abrahamson et al., 2003). Furthermore, cystatins of this class have been demonstrated not only to induce interleukin-6 production by human gingival fibroblast via its surface molecules (Kato et al., 2000, 2002) but also interferon gamma expression in CD4 positive T cells (Kato et al., 2004). Defining levels of a target cystatin in human body fluids and detecting a specific cystatin in tissues are helpful tools for investigating the physiological roles of each cystatin. In the course of studying the roles of family 2 cystatin, we conceived of producing highly specific monoclonal antibodies that could discriminate the structural differences between human salivary cystatins S, SN, and SA. These promise to provide a clinical trail for the cystatins.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Cystatins

Recombinant cystatin (r-cystatin) SA1 (originally cystatin SA), r-cystatin SA2 (a variant of cystatin SA harboring two amino acid substitutions: <sup>59</sup>Gly→Asp, <sup>120</sup>Glu→Asp) (Shintani et al., 1994; Haga and Minaguchi, 1999), and r-cystatin S were produced as described (Saitoh et al., 1998; Saitoh and Isemura, 1994). Cystatin A purified from human placenta and cystatin C from human plasma were purchased from BioPur AG, Bubendorf, Switzerland. Recombinant cystatin D and r-cystatin E/M were obtained from R & D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA. Chicken egg white cystatin was purchased from Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.

### 2.2. Preparation of murine monoclonal antibodies

Female BALB/c mice, 5 weeks of age, were immunized with r-cystatin SA1 or r-cystatin SA2 as the immunogen. For the first immunization, they were subcutaneously administered 0.3 ml of either immunogen (0.4 mg/ml) emulsified with an equal volume of Freund's incomplete adjuvant (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA). Thirty days later, the mice were given the same immunogen intraperitoneally; in all, five booster administrations were given. Three days after the final

immunization, the mice were bled, and the sera were separated by centrifugation. The reactivities and titers of antisera to cystatin SA1 or SA2 were confirmed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Hybridomas were produced by the polyethylene glycol (PEG 4000; Sigma Chemical) fusion of SP2 murine myeloma cells with splenocytes from the immunized mice as described previously (Kato et al., 1989). To produce antibody against cystatins SA1 and/or SA2, viable hybridomas were screened by ELISA and then cloned twice by the limiting dilution method. Monoclonal antibody isotypes were determined by using a monoclonal subtyping kit (American Qualex Company, San Clemente, CA, USA). The reactivities of the monoclonal antibodies were confirmed by an ELISA system. Large quantities of the monoclonal antibodies were produced by intraperitoneal injection of hybridoma cells into pristane-treated BALB/c mice. After 7–14 days, the ascites containing high concentrations of antibodies, were harvested. All of this study followed "A Guideline for the Treatment of Experimental Animals in Tokyo Dental College".

### 2.3. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

To elucidate the cross-reactivity of polyclonal and monoclonal antibodies against r-cystatins SA1 or SA2, the recombinant and authentic cystatins were used as coating antigens. These cystatins were diluted in phosphate-buffered saline (PBS; pH 7.2) to a final concentration of 10 µg/ml. The wells of 96-well microtiter plates (Corning Glass Works, Corning, NY, USA) were coated with 50 µl of antigen solution and incubated overnight at 4 °C. Plates were washed twice with PBS 0.05% Tween 20 (PBS-T), blocked for 1 h with 3% skim milk (Difco Laboratories) at 37 °C, and washed. Antiserum serially diluted with PBS or monoclonal antibody was added to each well; plates were incubated for 1 h at 37 °C and washed with PBS-T. The plates were incubated for 1 h with peroxidase-conjugated anti-mouse immunoglobulins (Cappel Laboratories, Cochranville, PA, USA), washed, and developed with 200 µl of *o*-phenylenediamine dihydrochloride (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan) substrate solution containing hydrogen peroxide. After the reaction was stopped by the addition of 50 µl of 3 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, the optical densities (OD) were measured at 490 nm using a microplate reader (model 3550, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA).

### 2.4. ELISA additivity test

In order to test the monoclonal antibodies recognize different epitopes, an ELISA additivity test was carried out as described by Friguet et al. (1983). The r-cystatin SA2 was first coated onto a 96-well microtiter plate (Corning Glass Works). Two monoclonal antibodies were then added either separately or simultaneously, and the amount of bound antibody was quantitatively measured. Additivity of the bound activity is observed when the monoclonal antibodies bind to

distinct epitopes. To quantitate the experimental results of the additivity test, an additivity index (AI) has been defined for a pair of antibodies as:

$$AI = \left[ \left\{ \frac{2A_{1+2}}{(A_1 + A_2)} \right\} - 1 \right] \times 100$$

where  $A_1$ ,  $A_2$  and  $A_{1+2}$  are the OD in the ELISA, with the first monoclonal antibody alone, the second monoclonal antibody alone, and the two antibodies together. When the two antibodies bind randomly at the same site, AI will be equal to zero.

### 2.5. Western blotting analysis

For the examination of the cross-reactivity of the polyclonal and monoclonal antibodies with S-type cystatins by Western blotting analysis, basic slab polyacrylamide gel electrophoresis was employed as described (Shintani et al., 1994). Human submandibular–sublingual saliva was collected by means of a universal cup (Shintani et al., 1994). The saliva samples were dissolved in the loading buffer and applied onto the gels. Following the gel electrophoresis, the separated proteins were transferred to nylon membranes (Millipore Co., Bedford, MA, USA) using Trans-Blot SD (Bio-Rad Laboratories). Each membrane was washed with PBS-T three times for 15 min and then placed in a blocking solution of PBS-3% skim milk and incubated for 1 h at room temperature. The membrane was incubated with the murine monoclonal antibodies or antisera overnight. After being probed with the antibody and washed with PBS-T, the membrane was incubated with horseradish peroxidase-conjugated anti-mouse immunoglobulins (Cappel Laboratories). Finally, the membrane was developed.

### 3. Results and discussion

The anti-r-cystatin SA1 mouse antiserum (polyclonal) showed a strong cross-reactivity with cystatins of family 2 such as r-cystatin SA2, r-cystatin S, and plasma cystatin C or egg white cystatin, but not with cystatin A from human placenta (family 1 cystatin), as shown in Fig. 1. The antiserum against r-cystatin SA2 (polyclonal) revealed almost

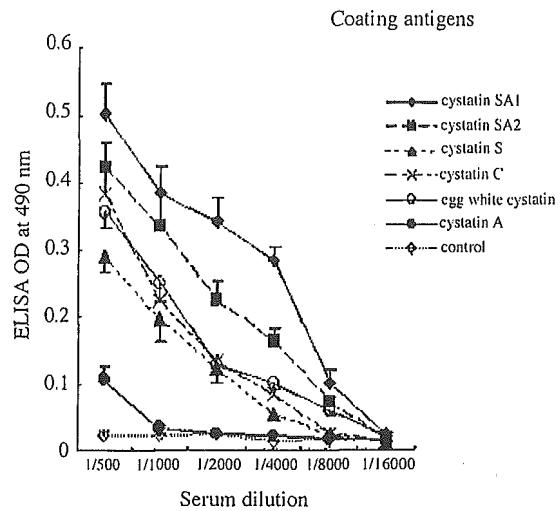


Fig. 1. ELISA reactivities of mouse antiserum against r-cystatin SA1. The recombinant and native cystatins were used as coating antigens. The wells of 96-well microtiter plates were coated with 10  $\mu$ g of either antigen. Antiserum was serially diluted with PBS.

the same cross-reactivity as the antiserum mentioned above. To obtain highly specific antibodies for human cystatin SA1 or its variant (SA2), we attempted to produce monoclonal antibodies using r-cystatin SA1 or r-cystatin SA2. Eventually, we were able to select two hybridomas harboring the monoclonal antibodies for r-cystatin SA1 and r-cystatin SA2, which are designated, respectively, as Cys3F11 and Cys2E5 (see Table 1). By ELISA, the antibody Cys2E5 (IgG1 isotype) was found to show a strong reactivity with r-cystatin SA2 and a weak cross-reactivity with r-cystatin SA1 (22% cross-reactivity) and plasma cystatin C (18% cross-reactivity). The Cys3F11 (IgG1 isotype) was demonstrated to react not only with r-cystatin SA1 but also with r-cystatin SA2 (89% cross-reactivity) and plasma cystatin C (47% cross-reactivity). Neither monoclonal antibody reacted with any other cystatin tested, including r-cystatins S, SN, D, and E/M or egg white cystatin, as shown in Table 1. The epitope specificity of the two monoclonal antibodies was then analyzed by ELISA additivity test. This assay requires that the antigen be saturated with each antibody tested. Accordingly, we determined the lowest concentration of each antibody at which saturation was achieved and used concentrations to perform ELISA with sin-

Table 1  
Comparison of the percent cross-reactivity of monoclonal antibodies for S-type cystatins determined by ELISA

Antibodies	Cystatins (coating antigens)								
	SA1	SA2	S	SN	C	D	E/M	EWC	A
Cys2E5/SA2 <sup>a</sup>	22	100	–	–	18	–	–	–	–
Cys3F11/SA1 <sup>a</sup>	100	89	–	–	47	–	–	–	–
MAB1285/SN <sup>b</sup>	–	N	50	100	–	–	–	N	–
MAB1201/SA <sup>b</sup>	100	N	100	100	–	–	–	N	–
MAB1296/S <sup>b</sup>	100	N	100	–	–	–	–	N	–

Data are from two duplicate experiments. EWC, egg white cystatin; (–), does not show cross-reactivity; N, not shown.

<sup>a</sup> Present study.

<sup>b</sup> Monoclonal antibodies produced by R & D Systems, Inc.

Table 2  
Additivity index for Cys2E5 and Cys3F11 monoclonal antibodies

Ascites and dilutions	ELISA OD	Additivity index (AI)
Cys2E5 1:100	0.421	–
Cys3F11 1:200	0.534	–
Cys2E5 1:100 + Cys3F11 1:200	0.785	64

Cystatin SA2 was used as a coating antigen.

Ascites dilutions correspond to the lowest concentrations at which saturation of antigen was achieved.

The additivity index (AI) is shown in %.

$AI = \{ [2A_{1+2} / (A_1 + A_2)] - 1 \} \times 100$ , where  $A_1$  and  $A_2$  are the OD of each antibody alone and  $A_{1+2}$  is the OD obtained with the two antibodies in the same reaction.

gle and with mixed pair of antibodies. As shown in Table 2, AI for Cys3F11 and Cys2E5 was 64%. This result shows that the bindings of the two monoclonal antibodies are additive, suggesting that these antibodies bind to distinct epitopes.

Generally, the immunoblots of saliva samples by native gel with anti S-type cystatin antisera give five positive bands (for homozygotes of cystatin SA1 or SA2) or six bands (for the heterozygote of SA1 and SA2), as shown in Fig. 2. Fig. 2 (lanes A and B) clearly demonstrated that immunoblots with monoclonal antibodies do not provide positive signals for non-phosphorylated cystatin S, mono-phosphorylated cystatin S, di-phosphorylated cystatin S, or cystatin SN. The immunoblot with Cys3F11 showed two positive bands for cystatins SA1 and SA2 with almost the equal intensity; how-

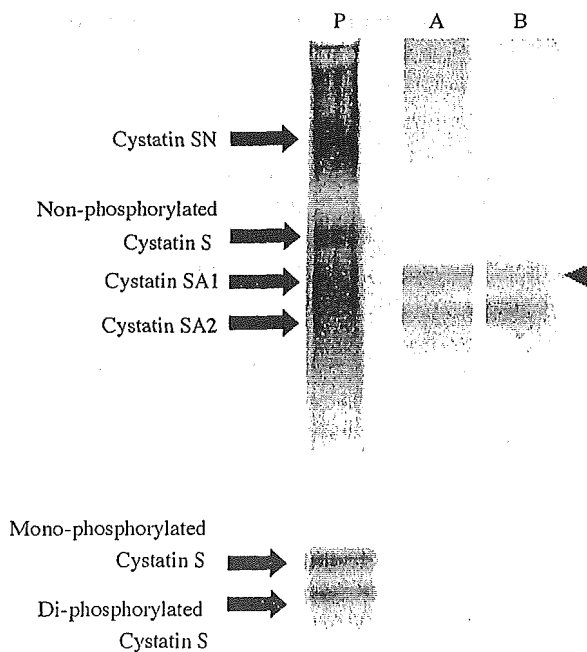


Fig. 2. Detection of S-type cystatins by Western blot. Western blot of human submandibular–sublingual saliva was performed as described by Shintani et al. (1994). The first antibodies used are: P; anti-r-cystatin SA1 antiserum, A; Cys3F11, B; Cys2E5.

ever, Cys2E5 formed a strongly reacting band with cystatin SA2 and a faint band (indicated by the arrowhead) with cystatin SA1, as seen in Fig. 2. These observations emphasize that the monoclonal antibody, Cys2E5, can discriminate the structural differences between cystatins SA1 and SA2, both of which are encoded by the CST2 locus. Neither monoclonal antibody showed a positive reaction with cystatin D in the immunoblot by acidic polyacrylamide gel electrophoresis (data not shown).

Recently, monoclonal antibodies have been produced from a hybridoma resulting from the fusion of a mouse immunized with r-human S-type cystatins expressed with a carboxyl terminal 10× His-Tag in a mouse myeloma cell line, NS0 (R & D Systems, Inc., catalog nos. MAB1296 for r-cystatin S, MAB1285 for r-cystatin SN, and MAB1201 for cystatin SA). As compared in Table 1, the commercially available antibodies do not show the ability to select r-human S-type cystatins. However, all the commercial monoclonal antibodies do discriminate the structural differences between r-human cystatin C and r-human S-type cystatins. It is noteworthy that the cross-reactivity of two monoclonal antibodies, Cys2E5 and MAB1201, is quite different.

Taken together, it can be concluded that there may be common epitopes and specific epitopes for the cystatins of this family.

#### Acknowledgement

This study was supported by Oral Health Science Center Grant 5A04 from Tokyo Dental College.

#### References

- Abrahamson, M., 1994. Cystatins. *Methods Enzymol.* 244, 685–700.
- Abrahamson, M., Alvarez-Fernandez, M., Nathanson, C.M., 2003. Cystatins. *Biochem. Soc. Symp.* 70, 179–199.
- Blankenvoorde, M.F.J., Henskens, Y.M.C., Van't Hof, W., Veerman, E.C.I., Nieuw Amerongen, A.V., 1996. Inhibition of the growth and cysteine proteinase activity of *Porphyromonas gingivalis* by human salivary cystatin S and chicken cystatin. *Biol. Chem.* 377, 847–850.
- Cornwall, G.A., Hsia, N., Sutton, G., 1999. Structure, alternative splicing and chromosomal localization of the cystatin-related epididymal *spermatogenic* gene. *Biochem. J.* 340 (Pt. 1), 85–93.
- Deloukas, P., Matthews, L.H., Ashurst, J., Burton, J.G.R., et al., 2001. The DNA sequence and comparative analysis of chromosome 20. *Nature* 414, 865–871.
- Eriksson, A., Töhönen, V., Wedell, A., Nordqvist, K., 2002. Isolation of the human testatin gene and analysis in patients with abnormal gonadal development. *Mol. Hum. Reprod.* 8, 8–15.
- Freije, J.P., Balbín, M., Abrahamson, M., Verasco, G., Dalboge, H., Grubb, A., López-Otín, C., 1993. Human cystatin D. cDNA cloning, characterization of the *Escherichia coli* expressed inhibitor, and identification of the native protein in saliva. *J. Biol. Chem.* 268, 15,737–15,744.
- Friguet, B., Djavadi-Ohanian, L., Pages, J., Bussard, A., Goldberg, M., 1983. A convenient enzyme-linked immunosorbent assay for testing whether monoclonal antibodies recognize the same antigenic site, application to hybridomas specific for the  $\beta 2$ -subunit of *Escherichia coli* tryptophan synthase. *J. Immunol. Methods* 60, 351–358.

- Haga, T., Minaguchi, K., 1999. Sequence variations of the *CST2* gene related to the polymorphism of salivary cystatin SA. *J. Dent. Res.* 78, 835–839.
- Halfon, S., Ford, J., Foster, J., Dowling, L., Lucian, L., Sterling, M., Xu, Y., Weiss, M., Ikeda, M., Liggett, D., Helms, A., Caux, C., Lebecque, S., Hannum, C., Menon, S., McClanahan, T., Gorman, D., Zurawski, G., 1998. Leukocystatin, a new class II cystatin expressed selectively by hematopoietic cells. *J. Biol. Chem.* 273, 16,400–16,408.
- Hamil, G.K., Liu, Q., Sivashanmugam, P., Yenugu, S., Soundararajan, R., Grossman, G., Richardson, R.T., Zhang, Y.-L., O'Rand, M.G., Petrusz, P., French, F.S., Hall, S.H., 2002. Cystatin 11: a new member of the cystatin type 2 family. *Endocrinology* 143, 2787–2796.
- Isemura, S., Saitoh, E., Ito, S., Isemura, M., Sanada, K., 1984. Cystatin S: a cysteine proteinase inhibitor of human saliva. *J. Biochem.* 96, 1311–1314.
- Isemura, S., Saitoh, E., Sanada, K., 1986. Characterization of a new cysteine proteinase inhibitor of human saliva, cystatin SN, which is immunologically related to cystatin S. *FEBS Lett.* 198, 145–149.
- Isemura, S., Saitoh, E., Sanada, K., 1987. Characterization of a new cysteine proteinase inhibitor (cystatin SA) structurally closely related to cystatin S, from human whole saliva. *J. Biochem.* 102, 693–704.
- Isemura, S., Saitoh, E., Sanada, K., Minakata, K., 1991. Identification of full-sized forms of salivary (S-type) cystatins (cystatin SN, cystatin SA, cystatin S, and two phosphorylated forms of cystatin S) in human whole saliva and determination of phosphorylation site. *J. Biochem.* 110, 648–654.
- Kato, T., Takazoe, I., Okuda, K., 1989. Structural analysis of lipopolysaccharides from *Eikenella corrodens* by use of murine monoclonal antibodies. *Infect. Immun.* 57, 656–659.
- Kato, T., Imatani, T., Miura, T., Minaguchi, K., Saitoh, E., Okuda, K., 2000. Cytokine inducing activity of family 2 cystatins. *Biol. Chem.* 381, 1143–1147.
- Kato, T., Imatani, T., Minaguchi, K., Saitoh, E., Okuda, K., 2002. Salivary cystatins induce interleukin-6 expression via cell surface molecules in human gingival fibroblasts. *Mol. Immunol.* 39, 423–430.
- Kato, T., Ito, T., Imatani, T., Minaguchi, K., Saitoh, E., Okuda, K., 2004. Cystatin SA, a cysteine proteinase inhibitor, induces gamma interferon expression in CD4 positive T cells. *Biol. Chem.* 385, 419–422.
- Ni, J., Abrahamson, M., Zhang, M., Fernandez, M.A., Grubb, A., Su, J., Yu, G.L., Li, Y., Parmelee, D., Xing, L., Coleman, T.A., Gentz, S., Thotakura, R., Nguyen, N., Hesselberg, M., Gentz, R., 1997. Cystatin E is a novel human cysteine protease inhibitor with structural resemblance to family 2 cystatins. *J. Biol. Chem.* 272, 10,853–10,858.
- Ni, J., Fernandez, M.A., Danielsson, L., Chillakuru, R.A., Zhang, J., Grubb, A., Su, J., Gentz, R., Abrahamson, M., 1998. Cystatin F is a glycosylated human low molecular weight cysteine protease inhibitor. *J. Biol. Chem.* 273, 24,797–24,804.
- Saitoh, E., Kim, H.-S., Smithies, O., Maeda, N., 1987. Human cysteine proteinase inhibitors: nucleotide sequence analysis of three members of the cystatin gene family. *Gene* 61, 329–338.
- Saitoh, E., Isemura, S., 1993. Molecular biology of human salivary cysteine proteinase inhibitors. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 4, 487–493.
- Saitoh, E., Isemura, S., 1994. Production of human salivary type cysteine proteinase inhibitors (cystatins) by an *Escherichia coli* system and partial characterization of recombinant cystatin S and its mutant (<sup>117</sup>arginine → tryptophan). *J. Biochem.* 116, 399–405.
- Saitoh, E., Minaguchi, K., Ishibashi, O., 1998. Production and characterization of two variants of human cystatin SA by two alleles at the *CST2* locus of the type 2 cystatin gene family. *Arch. Biochem. Biophys.* 352, 199–206.
- Shintani, M., Minaguchi, K., Isemura, S., Saitoh, E., Sanada, K., Semba, T., 1994. Genetic polymorphisms of the *CST2* locus coding for cystatin SA. *Hum. Genet.* 94, 45–49.
- Sotiropoulou, G., Anisowicz, A., Sager, R., 1997. Identification, cloning, and characterization of cystatin M, a novel cysteine proteinase inhibitor, down regulated in breast cancer. *J. Biol. Chem.* 272, 903–910.
- Stenman, G., Astrom, A.K., Roijer, E., Sotiropoulou, G., Zhang, M., Sager, R., 1997. Assignment of a novel cysteine protease inhibitor (*CST6*) to 11q13 by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.* 76, 45–46.
- Turk, B., Turk, D., Salvesen, G.S., 2002. Regulating cysteine protease activity: essential role of protease inhibitors as guardians and regulators. *Curr. Pharm. Des.* 8, 1623–1637.

禁煙推進委員会報告

「歯科大学の禁煙への取り組み状況に関する予備調査」

口腔衛生学会雑誌 56 巻第 1 号別刷

(平成 18 年 1 月発行)

THE JOURNAL OF DENTAL HEALTH Vol. 56 No.1

(Jan. 2006)

委員会報告

禁煙推進委員会報告

「歯科大学の禁煙への取り組み状況に関する予備調査」

稲葉 大輔<sup>\*,\*\*</sup> 埴岡 隆<sup>\*,\*\*\*</sup> 平田 幸夫<sup>\*,†</sup> 雫石 聡<sup>\*,††</sup> 川口 陽子<sup>\*,†††</sup>

口腔衛生会誌 56 : 90-92, 2006

日本口腔衛生学会禁煙推進委員会では、歯科大学（歯学部）の施設、診療、教育面での禁煙への取り組みの概況を知る目的で、平成 17 年 8 月 24 日に開催された全国歯科大学口腔衛生学教授協議会の際に予備調査を実施した。本調査では、同協議会を構成する全国 29 歯科大学（歯学部）の口腔衛生学、社会歯科学または予防歯科学に関連する講座（計 29 講座）の代表各 1 名に、自己記入・記名方式で質問票への回答を依頼した。当日欠席した大学については、後日、調査を依頼し、最終的な回収率は 100%（29 校、29 講座）であった。

結果の概要を表 1 に示す。禁煙化の状況を施設別にみると、歯学部の施設内については完全禁煙が 23 校（79.3%）、分煙が 6 校（20.7%）で、歯学部附属病院の施設内については、完全禁煙が 24 校（82.8%）、分煙が 4 校（13.8%）であった。歯学部、歯学部附属病院ともに、喫煙無制限の該当はなく、分煙の方法はすべてが「空間分煙」であった。29 校中 9 校（31.0%）では歯学部と関連施設の敷地内全域が禁煙指定されていた。

「定められた禁煙区域で喫煙しないルールは厳密に守られていますか」という質問に対し、「守られている」と答えたのは 20 校（69.0%）であり、9 校（31.0%）は「守られていない」と回答した。また、7 校（24.1%）では施設内にタバコの自販機が設置されており、この 7 校のうち「撤去する予定」としたのは 1 校のみであった。

住民や附属病院の患者に対して禁煙支援を行っているのは 10 校（34.5%）で、歯学部に禁煙支援の専門外来を持つのは 5 校（17.2%）であった。4 校（13.8%）では「専門外来はないが各診療科で行っている」との回答で

あった。今回の調査で診療部門をもつのは 18 講座で、このうち 9 講座では患者への禁煙支援を行っていた。また、職員に対する禁煙支援を行っているのは 8 校（27.6%）で、喫煙学生に対する禁煙支援の実施は 7 校（24.1%）にとどまった。

学部学生に対して禁煙教育を行っているのは 21 校（72.4%）にのぼり、実施方法別の件数（複数回答）は、①新入生等への禁煙・防煙教育（オリエンテーション時）が 10 校（34.5%）、②喫煙の健康影響等についての知識教育が 11 校（37.9%）、③たばこ対策等の公衆衛生教育が 6 校（20.7%）、④禁煙支援方法等の臨床的教育が 4 校（13.8%）、⑤その他が 1 校（3.4%）であった。

以上の結果から、国内 29 歯科大学（歯学部）とその附属病院のすべてで施設の禁煙への対策がすでに講じられていることが確認された。ただし、大学により対策に違いがみられ、いくつかの歯学部では空間分煙という形で喫煙が許容されている現状も明らかとなった。空間分煙は健康増進法の遵守ではあるが、受動喫煙の防止対策にすぎない。歯学部が医育機関である性格上、喫煙施設があることは、職員や学生に喫煙が推奨されていることと同義である。また、29 校中約 3 割の大学で、禁煙のルールが現実には守られていないという回答を得た。「喫煙は病気」と明確に定義づけられ、その禁煙支援が治療として保険にも導入されようとするなか、治療を担う歯科医師や教育職員が喫煙という病気の有病者であってよい時代ではもはやない。歯科大学は喫煙という病を通じて、その社会的責任と倫理性が強く問われているといえよう。今後、診療面では禁煙支援を行っていない大学には、

\* 日本口腔衛生学会禁煙推進委員会

\*\* 岩手医科大学歯学部予防歯科学講座

\*\*\* 福岡歯科大学口腔保健学講座

† 神奈川歯科大学社会歯科学講座

†† 大阪大学大学院歯学研究科予防歯科学教室

††† 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科健康推進歯学分野



表1 調査結果

		実数	%
1. 歯学部施設内は禁煙ですか.	1) 完全禁煙である	23	79.3
	2) 分煙となっている	6	20.7
	3) 喫煙に制限がない	0	0.0
2. 歯学部の分煙の状況は次のどれですか. (複数回答可)	1) 分煙対策なし	0	0.0
	2) 時間分煙 (禁煙タイム)	0	0.0
	3) 空間分煙	12	41.4
	ND	17	58.6
3. 歯学部附属病院の施設内は禁煙ですか.	1) 完全禁煙である	24	82.8
	2) 分煙となっている	4	13.8
	3) 喫煙に制限がない	1	3.4
4. 歯学部附属病院の分煙の状況は次のどれですか. (複数回答可)	1) 分煙対策なし	0	0.0
	2) 時間分煙 (禁煙タイム)	0	0.0
	3) 空間分煙	13	44.8
	ND	16	55.2
5. 歯学部とその附属病院で禁煙が規則あるいは 掲示等で明確に指定されているスペース はどれですか.	1) 歯学部と関連施設の敷地内全域	9	31.0
	2) 歯学部と関連施設内全域	12	41.4
	3) 歯学部施設内のみ全域	4	13.8
	4) 歯学部附属病院内のみ全域	3	10.3
	5) その他	0	0.0
ND	1	3.4	
6. 定められた禁煙区域で喫煙しないルールは 厳密に守られていますか.	1) はい	20	69.0
	2) いいえ	9	31.0
7. 施設内にタバコの自販機はありますか.	1) はい	7	24.1
	2) いいえ	22	75.9
8. (自販機がある場合) タバコの自販機を今後 どうしますか.	1) 撤去する予定である.	1	3.4
	2) 撤去の予定はない.	3	10.3
	ND	25	86.2
9. 住民や附属病院の患者に対して禁煙支援を 行っていますか.	1) はい	10	34.5
	2) いいえ	18	62.1
	ND	1	3.4
10. 歯学部に禁煙支援の専門外来がありますか.	1) はい	5	17.2
	2) いいえ	19	65.5
	3) 専門外来はないが各診療科で実施	4	13.8
	4) その他	0	0.0
	ND	1	3.4
11. 現在担当している診療部門で患者への禁煙 支援を行っていますか.	1) はい	9	31.0
	2) いいえ	9	31.0
	3) 診療部門がない	7	24.1
	ND	4	13.8
12. 職員に対して禁煙支援を行っていますか.	1) はい	8	27.6
	2) いいえ	19	65.5
	ND	2	6.9
13. 喫煙学生に対して禁煙支援を行っていますか.	1) はい	7	24.1
	2) いいえ	20	69.0
	ND	2	6.9
14. 歯学部の学生に対して禁煙教育を行って いますか.	1) はい	21	72.4
	2) いいえ	7	24.1
	ND	1	3.4
15. (14で「はい」の場合) 実施しているのは次 のどれですか. 担当者もご記入ください. (複数回答可)	1) 新入生等への禁煙・防煙教育	10	34.5
	2) 喫煙の健康影響等の知識教育	11	37.9
	3) たばこ対策等の公衆衛生教育	6	20.7
	4) 禁煙支援方法等の臨床的教育	4	13.8
	5) その他	1	3.4
ND	6	20.7	

禁煙診療を日常業務に導入できない理由を調べることで、禁煙支援を行っている大学には禁煙支援教育の場としての確立を促すための調査などが必要であろう。また、教育面では1/4の禁煙教育未実施大学への働きかけが必要であり、残りの大学においても教育実施内容は一貫していないため、禁煙教育のためのガイドラインなどを示す必要があると考えられた。

禁煙推進委員会では、この予備調査の結果をもとに、今後さらに詳細な調査を企画し、歯科大学・歯学部の適

切な禁煙推進のありかたと本学会が果たす役割について検討を進めていく予定である。会員各位のご協力をお願いする次第である。

著者への連絡先：稲葉大輔 〒020-8505 岩手県盛岡市中央  
通 1-3-27 岩手医科大学歯学部予防歯科学講座

TEL：019-651-5111（内線 4516）

FAX：019-622-2228

E-mail：dinaba@iwate-med.ac.jp

## 本学学生の喫煙習慣および喫煙に関する意識調査

古川 清香 徳永 涼<sup>1)</sup> 阿部 智<sup>2)</sup>

品田 佳世子 川口 陽子

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 環境社会医歯学系専攻

国際健康開発学講座 健康推進歯学分野

(主任：川口陽子教授)

<sup>1)</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 全人的医療開発学系専攻

包括診療歯科学講座 総合診療歯科学分野

<sup>2)</sup>神奈川歯科大学歯科医療社会学分野

(2005年6月27日 受付)

### Dental Students' Smoking Behavior and Their Attitude Towards Smoking

FURUKAWA Sayaka, TOKUNAGA Ryo<sup>1)</sup>, ABE Satoshi<sup>2)</sup>,  
SHINADA Kayoko and KAWAGUCHI Yoko

Oral Health Promotion, Department of International Health Development,  
Division of Public Health, Graduate School,  
Tokyo Medical and Dental University  
(Chief : Prof. KAWAGUCHI Yoko)

<sup>1)</sup>General Dentistry, Department of Comprehensive Oral Health Care,  
Division of Comprehensive Patient Care, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

<sup>2)</sup>Department of Dental Sociology, Kanagawa Dental College

口腔病学会雑誌第72巻第3号別刷  
平成17年9月30日発行

The Journal of The Stomatological Society, Japan  
Vol. 72, No. 3, September 2005

原 著

## 本学学生の喫煙習慣および喫煙に関する意識調査

古川清香 徳永 涼<sup>1)</sup> 阿部 智<sup>2)</sup>  
品田佳世子 川口陽子東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 環境社会医歯学系専攻  
国際健康開発学講座 健康推進歯学分野  
(主任：川口陽子教授)<sup>1)</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 全人的医療開発学系専攻  
包括診療歯科学講座 総合診療歯科学分野<sup>2)</sup>神奈川歯科大学歯科医療社会学分野

(2005年6月27日 受付)

Dental Students' Smoking Behavior and  
Their Attitude Towards SmokingFURUKAWA Sayaka, TOKUNAGA Ryo<sup>1)</sup>, ABE Satoshi<sup>2)</sup>,  
SHINADA Kayoko and KAWAGUCHI YokoOral Health Promotion, Department of International Health Development,  
Division of Public Health, Graduate School,  
Tokyo Medical and Dental University  
(Chief : Prof. KAWAGUCHI Yoko)<sup>1)</sup>General Dentistry, Department of Comprehensive Oral Health Care,  
Division of Comprehensive Patient Care, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University<sup>2)</sup>Department of Dental Sociology, Kanagawa Dental College

This study investigated dental students' smoking behavior and their attitudes, in order to provide programs to patients for giving up smoking. A questionnaire survey was conducted on dental students from November 2003 to February 2004. The subjects were 69 third-grade and 80 fifth-grade students of Tokyo Medical and Dental University.

The following results were obtained.

1. The smoking rate of dental students was 19.4% (Male : 31.3%, Female : 5.8%).
2. About forty-three percent of the students had started smoking before entering the university. However, most of the students who smoked had started after entering the university. The smoking rate and number of cigarettes smoked of fifth-grade students were significantly higher than those of third-grade students.
3. Dental students recognized the health risks of smoking more than the general public, especially concerning periodontal disease.
4. Only 5.4% of students answered that they would actively provide advice and instructions about the health hazards of tobacco to patients who smoked.
5. The rate of students who answered that they had enough knowledge to conduct smoking cessation programs for patients was 21.5%.
6. Students who smoked showed positive attitudes towards dentists' smoking behaviors and had passive attitudes towards smoking cessation programs conducted by dentists.

These results show it is necessary to conduct smoking cessation programs soon after entering university and to provide more lectures on tobacco and health issues as well as practical training programs about giving up smoking in the dental education curriculum.