

分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

徳島周辺における研究協力老人保健施設の確保

分担研究者 永田俊彦¹
研究協力者 米田 哲²

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・歯周歯内学分野
¹教授, ²助教

本研究は、超高齢者における老人性肺炎の発症予知因子として有用な検査項目を疫学的手法によって捉えることを目的に実施されるものである。したがって、研究に協力可能な多数の超高齢者を確保することが重要である。本年度は、研究協力老健施設を確保することを第一命題と設定し、徳島大学関連の複数の施設に協力を依頼した。その結果、15施設から承諾を得ることに成功し、その予備調査を行ったところ、入所・入院者は合計1,000名を超えることが分かった。介護状態も自立した方から胃裏で寝たきりの方まで様々で、介護老人における多様な病態がうかがえた。また、施設の看護スタッフへの聞き取りより熱発の既往のある老人が多数存在していることも確認できた。さらに、口腔内も無歯顎の方から残存歯数が20本を超える方までがいることが確認できた。以上のことから、来年度以降、本年度作成した検診票による超高齢者の検診を行う体制が整備された。このことは、本研究の遂行に大きく貢献できるものと思われる。

A. 研究目的

口腔内には500種類を越える細菌が存在してバイオフィルムを形成し、要介護高齢者における老人性肺炎などの全身疾患の発症に関与することが知られている。昨今、要介護高齢者に対する口腔ケアの必要性が叫ばれ、とりわけ誤嚥性肺炎の発症予防に対して焦点が当てられ、要介護高齢者の口腔清掃の手法だけでなく摂食嚥下指導に至るまで範囲を広げた取り組みが行われるようになった。しかしな

がら、これらの取り組みは、一部の要介護高齢者の生活面での機能回復を念頭に行われているものであり、将来的にはすべての要介護高齢者を対象とする効率的な口腔ケアを行うためのシステム整備が望まれる。

そこで、老人性肺炎の病態形成における口腔細菌の関与の程度を細菌学的に解析した結果をもとに、高齢者各々の老人性肺炎発症の危険度を科学的な根拠に基づいて判定できれば、高齢者各々の危険度に応じた口腔ケア実施の可能性が見出

せる。

B. 研究方法

岡山大学を主管校として複数の歯学部等が連携したマルチセンター方式の研究を行うこととし、研究参加予定の機関によるミーティングが昨年6月に行われた。その際、我々、徳島大学は主として老健施設に入所している要介護高齢者を対象として以下の調査を行うこととなった。

1) 口腔内診査

残存歯の清掃状態、歯石付着の程度、ポケットプロービングデプス計測およびポケット計測時出血

2) 日常生活診査

喫煙の有無、口腔ケアの有無、介護状態の調査（自立または要介護給付）、食事摂取の状態（普通食、軟食、流動食）

3) 全身状態調査

氏名、性別、年齢、身長、体重、全身基礎疾患、肺炎の既往の有無。また、調査期間内における熱発の有無。

4) 検体採取

市販の指尖微量血液採取システム（リージャー社、〒103-0027 東京都中央区3-2-14）を用い静脈血を約100 μ l採取し、血漿を分離回収する。この血漿を用いて歯周病関連細菌の血清抗体価計測を行う。

唾液は無糖ガムを咀嚼してもらい、分泌した唾液を回収したものをサンプルとする。唾液から細菌を分離し、細菌種の

特定および量の計測を行う。

検体採取は調査開始時に行い、開始後1年経過時に再度行う予定である。

これら調査を行うにあたり岩田歯科医院（院長：岩田利光 所在地：〒762-0006 坂出市旭町1-1-17）と共同研究を行うこととし、調査を行う老健施設等を確保することとなった。

C. 研究結果

岩田歯科医院と共同で本研究に協力を得られる施設を確保した。確保した施設は以下の通りである。

1. 社会福祉法人福寿会 特別養護老人ホーム 松林荘（〒761-2204 高松市綾川町山田下山王435-4）
2. 医療法人社団仁泉会 介護老人保健施設 鮎の里（〒761-1706 高松市香川町川東上150-1）
3. 医療法人社団仁泉会 介護老人保健施設 渡の里（〒761-1703 高松市香川町浅野2061）
4. 高松地区広域市町村圏振興事務組合 養護老人ホーム ひぐらし荘（〒761-1703 高松市香川町浅野1414）
5. 医療法人社団伸萌会 介護老人保健施設 ハピネス（〒761-8004 高松市中山741-1）
6. 社会福祉法人国分寺福社会 特別養護老人ホーム たちばな荘（〒769-0104 高松市国分町新名2081-2）
7. 社会福祉法人永世会 特別養護老人

- ホーム 愛生園(〒762-0021 坂出市西庄町大屋敷 79-1)
8. 社会福祉法松寿会 介護老人保健施設 松寿荘(〒762-0015 坂出市大屋富町 3100-26)
 9. 社会福祉法人多度津福祉会 特別介護老人ホーム 桃陵苑(〒764-0017 仲多度郡多度津町西港 127-3)
 10. 居宅介護支援事業所プランナー 介護付有料老人ホーム ネムの木(〒763-0092 丸亀市川西町南字岸ノ上甲 258-1)
 11. マエダメディカルコーポ 介護付有料老人ホーム フラワーガーデン京町(〒762-0001 坂出市京町 3-6-56)
 12. 医療法人 ひかり会 河内病院(〒764-0033 仲多度郡多度津町青木 130-1)
 13. 社会福祉法人三野福祉会 介護老人保健施設 みの荘(〒767-0031 三豊市三野大見乙 91-8)
 14. 坂出市立病院(〒762-0031 坂出市文京町 1-6-43)
 15. 医療法人社団社 まえだ整形外科外科医院(〒762-0007 坂出市室町 3-1-13)

本年度は以上 15 施設で予備調査を行った。その結果、入所・入院者は合計 1,000 名を超え、介護状態も自立した方から胃妻で寝たきりの方まで様々で、介護老人における多様な病態がうかがえた。また、施設の看護スタッフへの聞き取りより熱発の既往のある老人が多数存在していることも確認できた。さらに、口腔内も無歯顎の方から残存歯数が 20 本を超える方

までがいることが確認できた。

D. 考察および結論

本年度は本研究に参加する老健施設等の確保と、入所・入院者の予備調査までで終了している。入院・入所者の全てに本研究に参加していただくことにより、多様な病態を示す症例のサンプルおよびデータを収集でき、本研究の遂行に大きく貢献できるものと思われる。

来年度は本研究プロトコールに基づいてサンプルとデータ収集を各施設にて行う予定である。

E. 健康危険情報

特に記載事項なし。

F. 研究発表

特に記載事項なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

特に記載事項なし。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

自立高齢者および要介護高齢者の口腔細菌叢と
生活習慣に関する基礎調査

分担研究者 佐藤 勉

日本歯科大学生命歯学部・衛生学講座・准教授

平成 19 年度は、研究対象となる高齢者の一部について、おもに口腔細菌叢 (*Candida* sp. を含む、以下同様) および生活習慣に関する調査を実施した。具体的には、自立高齢者 20 名および要介護高齢者 52 名について、唾液を検体とした口腔細菌の検出および生活習慣調査を行った。また、要介護高齢者については、服薬状況についても調査した。その結果、自立高齢者からは 18 菌種、要介護高齢者からは 20 菌種が検出された。検出率が高かったのは自立高齢者、要介護高齢者ともに好気性菌では *Candida* sp. と *Haemophilus parainfluenzae*、嫌気性菌では *Prevotella melaninogenica* と *Capnocytophaga* sp. であった。また、自立高齢者、要介護高齢者ともに好気性菌に比べ嫌気性菌で検出率が高いものが多く認められた。1 人あたりの検出菌種数は自立高齢者で 3.1 ± 1.5 、要介護高齢者で 3.3 ± 1.7 であり、両者に有意な差はみられなかった。口腔清掃習慣については、自立高齢者では「1 日 2 回以上歯を磨く者」が 50 % でもっとも多く、要介護高齢者では全対象者が食後に介助者によってガーゼを用いた口腔内清拭を受けていた。要介護高齢者における薬剤の服用状況は、全ての対象者が 1 種類以上の薬剤を日常的に服用していた。服用率が高かった薬剤は便秘薬 (50.0 %) で、次いで催眠鎮静剤 (38.5 %)、口渇性薬剤 (30.1 %)、血管拡張剤 (28.8 %) の順であった。

A. 研究目的

2006 年における我が国の老年人口 (65 歳以上) 割合は 20.8 % であり、超高齢社会へと突入した¹⁾。こうしたことから、高齢者に対する保健・医療対策は極めて重大かつ急務である。厚生労働省の人口動態統計によると、1980 年以降 65 歳以上の高齢者では肺炎による死亡が全死因の第 4 位となっているが、直接死因としては肺炎および感染症が半数を占めるとの報告もみられる²⁾。さらに、肺炎で死亡する人のおよそ 92 % が 65 歳以上の高齢者であ

ることが示されている³⁾。また高齢者や要介護高齢者にみられる肺炎では、嚥下性肺炎が高い割合を示していることから^{4,5)}、その対策は高齢社会における重要課題の一つになってきている。肺炎の起炎細菌として *Streptococcus pneumoniae*、*Staphylococcus aureus*、*Haemophilus influenzae*、*Klebsiella pneumoniae* などが知られている⁶⁾。これらの細菌は口腔常在菌としてみられる場合も多いことから、嚥下性肺炎の発症と口腔細菌との関連が調べられている⁷⁻⁹⁾。

弘田ら¹⁰⁾は特別養護老人ホーム入所者

を対象に、5 か月間にわたり口腔ケアを実施し、咽頭からの総細菌数、レンサ球菌数およびブドウ球菌数の変動を観察した。その結果、歯科医師と歯科衛生士による口腔ケアは、いずれの細菌数も減少させたことから、専門家による積極的な口腔ケアは口腔感染症の予防のみならず、呼吸器感染症を含む種々の全身感染症の発症をも軽減させる可能性を示している。米山ら¹¹⁾は同じく特別養護老人ホームに入所している要介護高齢者に対して2年間の口腔ケアを実施し、その前後における肺炎発症率を比較した。その結果、口腔ケア後では発熱および肺炎の発症率が低下し、肺炎予防における口腔ケアの効果を明らかにしている。

Margaretら¹²⁾は55歳以上の358名について、肺炎発症と医・歯科学的リスクファクターとの関連性を調べた。9年間の追跡調査期間に50名が肺炎を発症しており、種々のリスクファクターに対するロジスティック回帰モデルを用いた分析を行った結果、口腔健康状態の改善が肺炎の発症率低下をもたらすことを示している。さらに泉福ら¹³⁾は要介護高齢者において、寝たきりの程度と口腔起炎菌の検出状況との関連性を明らかにし、*Klebsiella pneumoniae*や*Pseudomonas sp.*を指標とした口腔ケアの重要性を報告している。このような研究結果は、要介護高齢者における口腔起炎菌の適切なコントロールが肺炎予防を始めとする健康管理に効果的であることを示している。

一般に高齢者は、老化や種々の全身性疾患を有する場合が多いことから感染に対する防御機能が低下していると考えられる。すなわち、高齢者における口腔ケアは介護の必要性の有無にかかわらず重要となってくる。従来、要介護高齢者の好気性細菌や真菌を調べた報告はみられるが、介護を必要としない自立高齢者を

対象とした研究は少ない。特に嫌気性細菌にも着目し、自立高齢者と要介護高齢者における検出状況を同時に比較した報告はみることができない。

本研究では、自立高齢者と要介護高齢者の口腔における好気および嫌気性細菌(*Candida sp.*を含む、以下同様)の感染状況を把握する目的で、起炎菌を中心に検出を試みた。同時に生活習慣についても調査した。

B. 研究方法

1. 対象者

自立高齢者は埼玉県某村在住の65歳以上の男女計20名(男11名、女9名)で、年齢は66~83歳(平均年齢72.7±5.2歳)であった。要介護高齢者は東京都内の老人病院または特別養護老人ホームに入院/入所している男女52名(男12名、女40名)で、年齢は65~93歳(平均年齢75.4±8.2歳)であった。要介護の程度は対象者全員が「準寝たきり状態」であった。本研究を実施するにあたって、対象者や介護者に対して研究内容の十分な説明を行い、同意を得た。

2. 口腔細菌の検出

口腔細菌検出の検出は唾液を検体として行った。唾液の採取は、滅菌綿棒(シードスワブ1号、栄研)を口に含ませ、これに唾液を十分にしみ込ませることにより行った。その後直ちに、付属の検体保存輸送用培地に移した。検体採取後6時間以内に以下に示す各種培地を用いて、5% CO₂ 培養および嫌気培養(AnaeroPack・ケンキ、三菱ガス化学)を開始した。①コロンビア5%ヒツジ血液寒天培地〔Nippon Becton Dickinson Company (BD)〕、②BTB培地(BD)、③チョコレートII寒天培地(BD)、④OPAブ

ドウ球菌寒天培地 (BD), ⑤PASA 培地 (BD), ⑥ブルセラ血液寒天培地 (栄研), ⑦サブロー培地 (BD)

24~48 時間の初代分離培養を行った後, コロニーを釣菌し, 以下に示す確認培地および同定キットを用いて, 起炎菌を中心に目的菌の同定を行った。①MRSA (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) および MSSA (methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*): PS ラテックス (栄研)・ウサギプラズマ (栄研)・MRSA スクリーニング培地 (BD), ②*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* および他のグラム陰性桿菌: VITEK [bioMerieux vitek Japan (BVJ)], ③β 溶連菌: セロアイデンストレプトキット (栄研)・rapid ID32 strep API (BVJ), ④*Streptococcus pneumoniae*: 肺炎球菌鑑別用ディスク/タキソ P ディスク (BD)・ストレプト (BVJ), ⑤*Haemophilus influenzae*: ヘモフィルス ID4 分画 (BD), ⑥*Candida sp.*: カンジダチェック (ヤトロン)

3. 生活習慣

対象者の生活習慣に関して, 本調査では口腔清掃習慣と要介護高齢者の薬剤服用状況を調査した。薬剤は成分や使用目的から分類し, 副作用の項目に口渇が記載された薬剤は別に口渇性薬剤として掲げた。

4. 統計学的解析

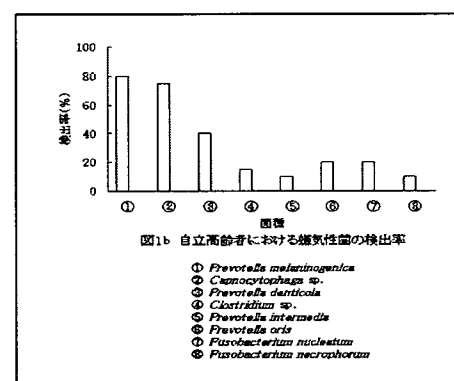
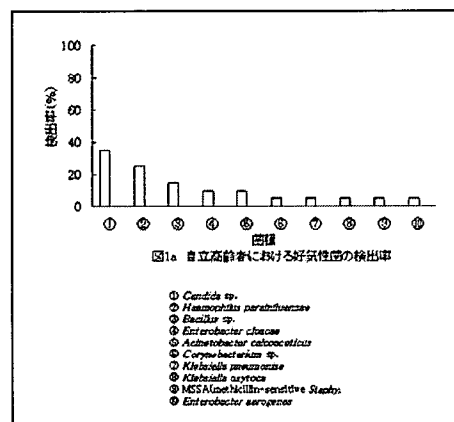
平均値の差の検定には *t* 検定, 微生物の検出率の比較には割合の差の検定を行い, 危険率 5% を基準に有意差ありと判定した。

C. 研究結果

1. 口腔細菌の検出

1) 自立高齢者

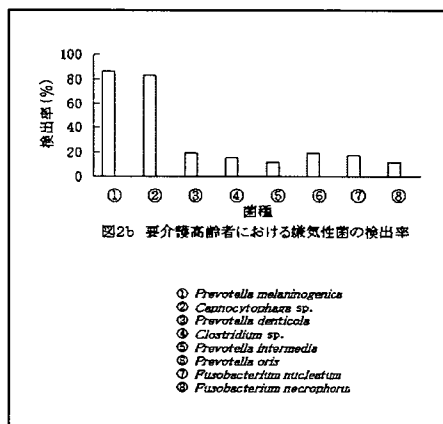
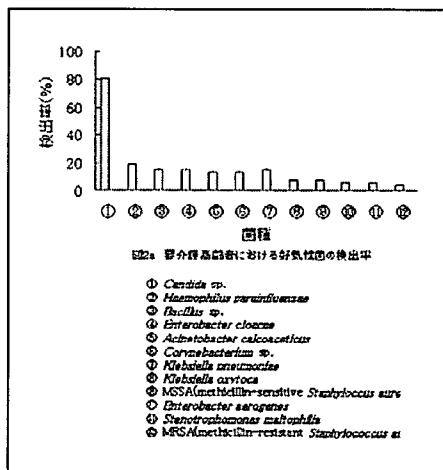
自立高齢者の口腔細菌の検出結果を図 1 (a と b) に示した。検出菌種数は好気性菌が 18 種, 嫌気性菌が 20 種であった。検出率が高かったのは, 好気性菌では *Candida sp.* (35.0%) と *Haemophilus parainfluenzae* (25%), 嫌気性菌では *Prevotella melaninogenica* (80.0%) と *Capnocytophaga sp.* (75%) であった。また, 好気性菌に比べ嫌気性菌で検出率が高いものも多く認められ, 1 人あたりの検出菌種数は自立高齢者で 3.1 ± 1.5 であった。



2) 要介護高齢者

要介護高齢者の口腔細菌の検出結果を図 2 (a と b) に示した。検出菌種数は好気性菌が 12 種, 嫌気性菌が 8 種であった。検出率が高かったのは好気性菌, 嫌気性

菌ともに自立高齢者と同様に前者では *Candida* sp. (80.8%) と *Haemophilus parainfluenzae* (19.2%), 後者では *Prevotella melaninogenica* (86.5%) と *Capnocytophaga* sp. (82.7%) であった。また、好気性菌に比べ嫌気性菌で検出率が高いものも多く認められ、1人あたりの検出菌種数は 3.3 ± 1.7 であった。なお、1人あたりの検出菌種数については自立高齢者と要介護高齢者との間に有意な差はみられなかった。



自身で行っており、2回実施しているものが半数を占めていた(表1)。要介護高齢者では全員が介助者によるガーゼを用いた口腔内清拭を毎食後に受けていた。

表1 自立高齢者の歯磨き習慣

歯磨き回数/日	人数
1回	7
2回	10
3回	2
4回以上	1

2) 薬剤の服用状況

要介護高齢者における薬剤の服用状況の調査結果を表2に示した。全ての対象者が1種類以上の薬剤を常用しており、服用率がもっとも高かったのは便秘薬(50.0%)で、次いで催眠鎮静剤(38.5%)、口渴性薬剤(30.1%)、血管拡張剤(28.8%)の順であった。

表2 要介護高齢者の薬剤服用率(複数回答)

薬剤	人数	%
糖尿病剤	2	3.8
不整脈用剤	2	3.8
利尿剤	7	13.5
降圧剤	6	11.5
血管拡張剤	15	28.8
強心剤	3	5.8
他の中枢神経系用薬	6	11.5
抗パーキンソン剤	5	9.8
催眠鎮静剤	20	38.5
神経系用剤	11	21.1
抗てんかん剤	2	3.8
鎮痛、安眠剤、軟骨支援剤	5	9.6
消化器用薬	4	7.7
健胃消化剤	4	7.7
消化性薬	5	9.6
便秘薬	26	50.0
解熱鎮痛消炎剤	6	11.5
消化酵素剤	4	7.7
アレルギー用薬	2	3.8
他の血液、体液用薬	2	3.8
ビタミンA,D剤	7	13.5
ビタミンB1,B6,B12剤	5	9.6
ガブラム剤	2	3.8
高血圧用剤	5	9.6
陽イオン交換樹脂剤	2	3.8
口湿性薬剤	16	30.1

2. 生活習慣関連

1) 口腔清掃習慣

口腔清掃習慣については、自立高齢者では全員が1日1回以上の歯磨きを自分

D. 考察および結論

ヒトの口腔内には350種にも及ぶ細菌

をはじめとする微生物が生息し、口腔微生物叢を構成している¹⁴⁾。これら微生物のなかで齶蝕や歯周疾患の発症や進行に関連するものについては、その性状や病原性等がかなり明らかにされている。

近年、口腔と全身の健康との関連が注目されており、口腔細菌についても全身性疾患との関わりが検討され始めている⁵⁻⁷⁾。なかでも、高齢者や要介護高齢者で高い死亡率がみられる嚥下性（誤嚥性）肺炎の発症に口腔細菌が関与しているとの報告は多い^{3, 4-6, 15)}。こうした研究成果をふまえ、高齢者や要介護高齢者に対する口腔ケアは、単に嚥下性肺炎予防のためだけでなく、全身の健康面からも重要であり、さらにはQOLの向上につながっていくものと認識されるようになってきた^{10, 11)}。

従来、要介護高齢者における嚥下性肺炎について、口腔の好気性細菌や真菌に関する疫学調査が行われているが、嫌気性細菌や自立高齢者について同時に調べた研究はみることが出来ない。そこで、我々は自立高齢者および要介護高齢者の口腔細菌叢を比較検討する目的で、歯垢や舌苔を検出用検体とした研究を行ってきた¹⁶⁻¹⁹⁾。本研究ではこれらの研究結果を基に唾液を検体として、自立高齢者および要介護高齢者の好気性菌並びに嫌気性菌について同時に検出を試みた。

本研究において、自立高齢者および要介護高齢者の口腔から複数種の好気および嫌気性の起炎性微生物が検出された。自立高齢者および要介護高齢者では、好気性微生物に比べ *Prevotella melaninogenica* や *Capnocytophaga sp.* のような嫌気性微生物の検出率が高かったことから、対象者においては、嫌気性微生物による口腔感染・発症のリスクが高まっているものと考えられた。嫌気性微生物は、肺炎や心臓疾患などの全身性疾患

の発症に関与していることから、一般に易感染性である高齢者においては、これらの嫌気性微生物の検出状況を指標とした確実な口腔ケアの実施が重要となることが示された。さらに、要介護高齢者では自立高齢者に比べ、*Candida sp.*、*Corynebacterium sp.*、*Klebsiella pneumoniae* や MSSA の検出率が高かったことから、肺炎の発症リスクが高い状況にあると考えられる。

口腔清掃習慣については、自立高齢者では半数以上が1日1回以上の歯磨き習慣を有しており、要介護高齢者では全員が毎食後に介助者によってガーゼによる口腔内清拭を受けていた。歯磨き回数と細菌の検出状況との関連について詳細な検討を行っていないが、確実な口腔細菌のコントロールには単に歯磨きの回数だけでなく、その方法・手技といった質的なものが重要であると考えられた。さらにガーゼを用いた介助者の口腔清拭は細菌感染予防には効果が少ないことが明らかになった。したがって、歯磨きの実施が困難な高齢者、特に要介護高齢者では殺菌性を有する薬剤を併用するなどの試みが必要と考えられた。

要介護高齢者の多くは1種類以上の薬剤を常用していたが、自立高齢者でも同様の状況が推察される。今後、常用している薬剤と口腔細菌叢との関連についても検討していく予定である。

E. 参考文献

1. 厚生省の指標（臨時増刊）、国民衛生の動向、54(9)：36, 2007.
2. 佐々木英忠，中山勝敏，鎌仲正人：誤嚥性肺炎のメカニズムと最近の知見，歯界展望 91：1280-1287, 1998.
3. 米山武義：口腔ケアの今日的とらえ方と誤嚥性肺炎予防，歯界展望 91：

- 1276-1479, 1998.
4. Ely EW, Haponik EF: Pneumonia in the elderly. *J Thorac Imaging* 6: 46-61, 1991.
 5. Niederman MS : Nosocomial pneumonia in the elderly patient. Chronic care facility and hospital considerations. *Clin Chest Med* 14: 479-490, 1993.
 6. Marrie TJ, Durant H, Yates L: Community-acquired pneumonia requiring hospitalization: 5-year prospective study. *Rev Infect Dis* 11: 586-599, 1989.
 7. 斎藤 厚, 河野 茂 : 呼吸器感染症における口腔内常在細菌の意義 — とくに嫌気性菌について —, *Prog Med* 9:15-19, 1989.
 8. 三宅洋一郎 : 口腔粘膜, *Today's Therapy* 2: 5-8, 1995.
 9. 奥田克爾 : 老人性肺炎と口腔細菌, *日歯医師会誌* 49: 4-12, 1996.
 10. 弘田克彦, 奥田克爾, 太田昌子 : プロフェッショナル・オーラル・ヘルス・ケアを受けた高齢者の咽頭細菌数の変動, *日老医誌* 34: 125-129, 1996.
 11. 米山武義 : 誤嚥性肺炎予防における口腔ケアの効果, *日老医誌* 38: 476-477, 2001.
 12. Margaret ST, George WT, Dennis EL, Connie KK, Liza BD, Walter JL : Aspiration pneumonia: Dental and oral risk factors in an older veteran population. *A. Am Geriatr. Soc.* 49: 557-563, 2001.
 13. 泉福英信, 十亀 輝, 由川英二, 花田信弘 : 特別養護老人ホーム等施設内高齢者の口腔バイオフィルム内細菌群と全身疾患との関連, *Bacterial Adherence 研究* 14: 21-26, 2000.
 14. 奥田克爾 : 新口腔感染症とアレルギー, 一世出版, 東京, 311, 2000.
 15. Granton JT, Grossman RF: Community-acquired pneumonia in the elderly patient. Clinical features, epidemiology and treatment. *Clin. Chest Med.* 14: 537-553, 1993.
 16. 高田将成, 佐藤 勉, 泉福英信, 花田信弘 : 自立生活高齢者と要介護高齢者の口腔微生物叢の比較, *口腔衛生会誌* 54 : 178-188, 2004.
 17. Nakamura S, Tanaka T, Nomura Y, Sato T: Oral opportunistic pathogens and oral health care in assistance-dependent elderly. *Int J Oral Health* 3: 45-51, 2006.
 18. Sato T, Tanaka T, Yaegaki K: Comparison of the oral flora of independent elderly and those requiring nursing assistance. *Dentistry in Japan* 42: 86-89, 2006.
 19. 清水孝悦, 田中とも子, 佐藤 勉 : 自立高齢者における口腔日和見菌に関する口腔保健学的研究, *Bacterial Adherence & Biofilm* 20: 63-69, 2006.
- F. 健康危険情報**
- 特に記載事項なし。
- G. 研究発表**
- 特に記載事項なし。
- H. 知的財産権の出願・登録状況**
- 特に記載事項なし。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

唾液検査による歯周病スクリーニング精度の向上

分担研究者 野村義明

国立保健医療科学院口腔保健部・口腔保健技術室長

唾液中の炎症を表すバイオマーカである乳酸脱水素酵素（LDH）、ヘモグロビン（HB）は歯周病の進行状態と関連があるものの、関連性が弱く、スクリーニングとしての感度、特異度が低いことが問題であった。本研究課題では歯科診療所通院中の患者 104 名を対象に唾液中の LDH、HB を測定し背景因子である年齢、現在歯数を共変量として調整した後の値を用いて LDH、HB による歯周病スクリーニングの有用性を検討した。その結果、従来の結果で得られていた感度、特異度より高い値が得られその有用性が明らかとなった。またこれらのマーカは採取が容易なこと測定費用が安価なことから寝たきり高齢者にも適用が可能であり、口腔内の炎症状態を歯科関係者以外でも数値によってモニタリングしてゆくことが可能である。しかし、公衆衛生でこれらの手法を用いるのは煩雑であるため、より大きな母集団で年齢、現在歯数また性別、喫煙歴ごとの基準値を設定してゆく必要がある。

A. 研究目的

歯周病は、歯肉に存在する歯周病菌の毒素によって病態が形成される。その結果として結合組織分離、及び、骨吸収に至る宿主の炎症性の反応を誘発する。临床上、歯周病は、歯周ポケットの深さ、アタッチメントレベル、出血、骨吸収（Taba *et al*, 2005; Kinney *et al*, 2007）の精査によって診断される。地域保健において歯周病は、重要な主題である。歯周病は自覚症状のないまま進行する疾患であるため、歯周病の初期段階で歯周病を

発見することが重要な課題である。

従来、集団健診においては歯周病は臨床における診断方法と同様な手法を歯科医療関係者によって代表歯に用いることによって行われてきた。この方法論は歯周病健診の受診率を低下させ、歯科医療関係者の人件費から歯周病健診の費用を高沸させてきた。またこの方法論は時間がかかり、その結果として一日に健診できる人数に限りがあった。

上記の問題を克服するため、医科で一般的に行われている血液、尿または唾液を用いて歯周病をスクリーニングする試

みを行ってきた。その結果として唾液中の乳酸脱水素酵素 (LDH) とヘモグロビン (HB) が歯周病スクリーニングの候補となるバイオマーカーである可能性が示唆された。これらの酵素は口腔内の炎症、出血を示すマーカーであり、高齢者の誤性肺炎のスクリーニングとしても使用できる可能性がある。しかし、これらのバイオマーカーによるスクリーニングではその感度、特異度などが決して高い値ではないことが問題として残っていた。しかしこれらのバイオマーカーの有用性を検討した研究は年齢層、性別、歯周病の罹患状態などの点で均一な集団ではなかった。この点を考慮し本研究課題ではこれらの問題点を解決するため共分散分析を適用して歯周病の病態進行に関連する交絡因子を調整することによってスクリーニングの精度が向上するかを検討した。

B. 研究方法

1. 調査対象

調査対象者は愛媛県歯科医師会の協力により愛媛県歯科医師会会員の18の診療所に通院する患者を対象とした。調査対象者数は104名であり、その内訳は男性63名、女性41名、年齢19-77歳、平均年齢は42.96 +/- 19.33であった。本研究に際しては鶴見大学歯学部倫理委員会の承認を得ている。

2. 口腔内診査

本研究実施前の歯周ポケット測定のカリブレーションの講習会を実施した。各歯科医院ではトレーニングを受けた歯

科医師が歯周ポケットの測定を行った。歯周ポケットの測定はWHOプローブを用いCPIの基準に従って行った。また現在歯数を記録した。

3. 唾液中バイオマーカーの測定

唾液は口腔診査前に採取した。採取方法は5分間無糖ガムを咀嚼させ刺激唾液を採取した。採取した唾液は4℃で保管し分析を行った。唾液中の乳酸脱水素酵素 (LDH) はL type LDH Wako を用いて測定した。ヘモグロビンは保存液に希釈後ラッセクスビーズ法にて測定した。

4. 統計解析方法

CPI と各因子の関連は連続変数に対してはKruskal-Wallis を、カテゴリカル変数に対してはFisherの正確確率計算法を用いた。共分散分析 (ANOVA) はLDH, HBを目的変数としCPIを固定因子とした。またCPIとの関連において統計学的に有意であった変数は共変量とした。CPI: 1, 2, 3, 4の各スクリーニングとしての基準値の設定はROC曲線を用い感度と特異度の差が最も小さくなる点を基準値とした。またarea under ROC curve (AUR) も算出した。変数にはLDH, HBの測定値の他、共分散分析で得られた共変量調整後の変数もあわせて用いた。

C. 研究結果

CPI との関連では性別、年齢、現在歯数、喫煙歴が統計学的に有意であった。年齢の増加とともに歯周病の病態が重篤になってゆく関係が見いだされたが、

CPI2 の患者に対しては、CPI3 の患者より平均年齢が高いという結果であった。CPI の 0 から 3 までの間は現在歯数の減少はわずかな値であった。しかし CPI3 と 4 の間で現在歯数が大きく減少する結果が得られた。男性と女性の比較では男性の方が歯周病が重篤である結果であった。喫煙歴も CPI と統計学的に有意な関連が見いだされたが、喫煙者と過去の喫煙者の差も小さなものであった。

唾液中の LDH と HB はともに CPI と有意な関連性を示さなかった。CPI と関連のあった因子を共分散分析で共変量として調整を行った。年齢、現在歯数、性別、喫煙歴を共変量として共分散分析を行った。その結果、感度、特異度の算出においては LDH、HB の測定値そのものと大きな変化はみられなかった。共分散分析では一般的にカテゴリカル変数を共変量として用いるのは適切ではないとされている。そこで連続変数である年齢と現在歯数のみを共変量として共分散分析を行った。調整後の LDH、HB の値とも CPI と統計学的に有意な関連を有した。この調整後の変数を用いて ROC 曲線を描き、AUR を算出した。CPI4 のスクリーニングにおいては LDH、HB ともに AUR の値は 0.7 を超えた。

D. 考察

本研究では CPI と関連を有する Demographic 因子の調整を共分散分析を用いて行った。年齢、現在歯数、喫煙歴が歯周病の進行状態と関連を有することは多くの研究から明らかになっているが、

本研究の結果もそれと一致した。従来、CPI などの歯周病の指標を LDH、HB は弱い関連しか得られなかった。本研究課題ではその点を見直すための基礎として統計モデルの手法を用いて調整後の統計学的有意性を検討した。その結果、CPI と LDH、HB において有意な関連が認められた。

本研究では CPI1 と 3 で LDH、HB の値が大きく異なった。CPI 1 では出血、CPI3 では 4-5 mm の歯周ポケット形成という歯周病の進行にあわせて炎症のレベルも上がりその結果として唾液中の LDH、HB の値が高くなったものと考えられる。しかし、CPI2 においてはその判定基準が歯石形成という歯周病の進行状態を必ずしも表していない判定基準であるため用量反応性が得られなかったものと思われる。

歯周病の診断、スクリーニングには多くのバイオマーカーが研究されている。しかし、これらのマーカーはサンプリング方法が複雑であったり、測定にかかる費用が高価であったり、研究用の試薬で測定し、診断に使用することが禁止されているものも多い。この点で唾液中の LDH、HB は測定価格も安価であり、サンプルの採取方法も容易であるため、その有用性は高い。また、寝たきり高齢者等にも適用可能である。今後、今回のデータの基準値を参考に対象者を寝たきり高齢者にシフトさせ誤嚥性肺炎との関連性を検討してゆく予定である。

E. 結論

本研究課題では歯科診療所通院中の患

者 104 名を対象に唾液中の LDH, HB を測定し背景因子である年齢, 現在歯数を共変量として調整した後の値を用いて LDH, HB による歯周病スクリーニングの有用性を検討した。その結果, 従来の結果で得られていた感度, 特異度より高い値が得られその有用性が明らかとなった。

特に記載事項なし。

G. 研究発表

特に記載事項なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

F. 健康危険情報

特に記載事項なし。

表 1. 背景因子とCPIの関連

(A) 連続変数

	CPI					Total	P-value
	0	1	2	3	4		
n	28	21	18	25	9	101	
Age	35.54 \pm 9.17	42.04 \pm 9.14	45.28 \pm 6.35	44.68 \pm 7.48	55.04 \pm 9.22	42.62 \pm 9.84	<0.001
Number of remaining teeth	27.25 \pm 1.38	26.52 \pm 2.44	27.17 \pm 1.58	27.24 \pm 1.45	22.56 \pm 3.71	26.66 \pm 2.34	0.001
Saliva volume	7.88 \pm 2.59	8.68 \pm 2.31	8.29 \pm 2.39	8.58 \pm 2.83	7.63 \pm 2.33	8.27 \pm 2.53	0.727

P-value は Kruskal -Wallis testにより算出。

(B) カテゴリカル変数

		CPI					Total	P-value
		0	1	2	3	4		
Gender	Female	23	14	10	13	3	63	0.047
	Male	5	7	8	12	6	38	
Smoking	Nonsmoker	25	15	12	19	3	74	<0.001
	Previous Smoker	3	0	4	4	0	11	
	Current Smoker	0	6	2	2	6	16	
Prescription drug	No	24	19	16	21	7	87	0.900
	Yes	4	2	2	4	2	14	
Total		28	21	18	25	9	101	

P-values はFisher' s exact testsにより算出。

表 2. 唾液中 LDH、HB, の計測値と年齢、現在歯数調整後の値とCPIの関連

	CPI					Total	P-value
	0	1	2	3	4		
Crude LDH	171.21 \pm 20.56	245.54 \pm 37.77	192.89 \pm 57.21	271.04 \pm 148.39	290.67 \pm 188.21	225.68 \pm 105.69	0.167
Adjusted LDH	171.21 \pm 20.47	245.54 \pm 32.71	192.89 \pm 49.13	271.04 \pm 122.25	290.67 \pm 184.22	225.68 \pm 95.48	<0.001
Crude Hb	1.422 \pm 2.422	3.543 \pm 9.780	2.465 \pm 5.503	6.263 \pm 20.169	3.386 \pm 8.143	3.422 \pm 11.646	0.705
Adjusted Hb	1.422 \pm 1.146	3.72 \pm 2.197	2.464 \pm 1.661	6.263 \pm 7.341	3.386 \pm 1.582	3.456 \pm 4.287	<0.001

P-values は Kruskal-Wallis testsにより算出。調整は共分散分析によって行った。調整後のLDH, HBはともにCPIと有意な関連性を有した。LDHに関してはCPI2の値により用量反応性が得られていない。HBに関してはCPI3と4の間でCPI3の方が高い値を示しているがこれはCPI3に一名、99.05 mg/dlという高い値を示した者がいたためである。

表3. LDH, HBの歯周病に対するスクリーニングの基準値

	Crude LDH						Adjusted LDH					
	Cut off point	AUR	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value	Cut off point	AUR	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value
CPI 1	177.5	0.604	0.573	0.571	0.778	0.571	204.1	0.563	0.503	0.873	0.956	0.873
CPI 2	182.5	0.511	0.519	0.531	0.540	0.531	201.6	0.713	0.731	0.739	0.745	0.729
CPI 3	182.5	0.533	0.529	0.522	0.580	0.522	208.6	0.807	0.794	0.803	0.673	0.803
CPI 4	217.2	0.617	0.528	0.652	0.135	0.652	222.7	0.713	0.887	0.670	0.877	0.670

	Crude HB						Adjusted HB					
	Cut off point	AUR	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value	Cut off point	AUR	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value
CPI 1	0.269	0.546	0.534	0.526	0.733	0.536	2.244	0.872	0.833	0.750	0.694	0.750
CPI 2	0.285	0.529	0.519	0.551	0.551	0.551	2.877	0.737	0.731	0.583	0.655	0.583
CPI 3	0.325	0.571	0.559	0.582	0.408	0.582	3.185	0.755	0.706	0.773	0.615	0.773
CPI 4	0.387	0.627	0.556	0.730	0.172	0.730	3.538	0.640	0.656	0.593	0.609	0.607

AUR (Area Under the ROC curve) はROC曲線の下面積を表しスクリーニングの精度が高いほど高い値を示す。年齢、現在歯数調整後の感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率、AURの値は全て上昇した。LDHに関しては、基準値はCPI2の値が低く用量反応性はこの部分のみ成立していない。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

血清歯周病抗体価と COPD 増悪との関連性
歯周病合併により COPD 増悪は増加する？

研究協力者 寺田邦彦，室繁郎，伊藤穰，三嶋理晃

京都大学医学部附属病院呼吸器内科

慢性閉塞性肺疾患（chronic obstructive lung disease, COPD）は、有毒な粒子の吸入（喫煙など）により、気管支・肺胞に慢性炎症をきたし、咳、痰、労作時の呼吸困難などの症状とともに、不可逆的な気道閉塞（息を吐き出しにくくなる障害）を来す慢性呼吸器疾患である。COPD は 70 歳代をピークとして中高年の喫煙者に多い病気で、本邦では 40 歳以上の約 530 万人が罹患していると推定されている。世界的にも増加傾向にあり、世界の疾患別死因順位で 1990 年第 12 位から 2020 年には第 5 位になると考えられている。COPD は、主に気道感染、大気汚染物質などにより急激に呼吸器症状が悪化（増悪）することで、病態が進行する。COPD 増悪は死亡率増加・医療費高騰の原因であり、増悪の予防・抑制は極めて重要である。COPD 発症、増悪の予防・抑制のため禁煙は極めて重要であるが、禁煙後も慢性炎症が遷延し病態が進展することから、喫煙以外にも様々な危険因子が検討されている。本研究は、その危険因子として口腔内細菌を想定し、COPD 患者の病態と代表的な歯周病細菌に対する血清 IgG 抗体価（歯周病菌感染度の指標）の関連性を統計学的手法によって検討した。対象患者は、京都大学呼吸器内科通院中の COPD 患者 63 名（平均年齢：73.0 歳）とし、血清 IgG 抗体価の測定は通法にしたがい ELISA 法を用いて行った。本研究結果は、興味あることに COPD の増悪と歯周病菌感染度が負の相関を示すものであった。このことは、加齢に伴う免疫反応の弱体化とともに、残存菌の脱落という高齢者の器質的な変化に起因する歯周病菌感染度の低下の両面から鑑みて合理的なものであると考える。

A. 研究目的

慢性閉塞性肺疾患（chronic obstructive lung disease, COPD）は、有毒な粒子の吸入（喫煙など）による慢性炎症により実質性病変（肺気腫）、気道病変（慢性気管支炎）を生じ、不可逆的な気道閉塞（息を吐き出しにくくなる障害）を来す慢性呼吸器疾患である。本邦では、500 万人以上が罹患し、その率は高齢化するにしたがい上昇することが知られ、とりわけ 70 歳以上では約 17% が罹患すると言われている。したがって、COPD は老年病の一つとして理解されてい

る。（COPD の病態生理を図 1 に示す）。
歯周病は歯周組織の炎症に始まり、次

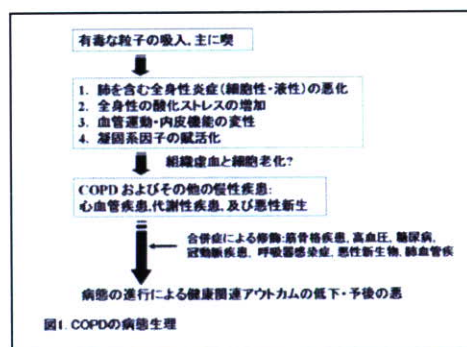
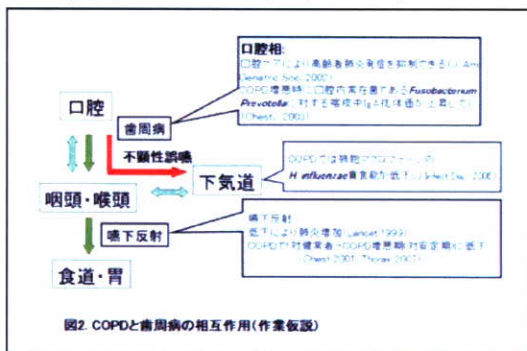


図1 COPDの病態生理

第に歯を支える歯槽骨が吸収され、歯の脱落を引き起こす慢性感染症である。歯周病の大部分を占める慢性歯周炎の原因菌は、*Porphyromonas gingivalis*などの偏性嫌気性グラム陰性細菌であることが知られているが、昨今、歯周病研究は大きなパラダイムシフトを起こしている。すなわち、様々な疫学研究によって歯周病と全身疾患との関連が指摘、報告されるようになった。

最近、Leuckfeldらは、疫学研究によって、COPD症例では非COPD呼吸器疾患症例と比較して有意に歯周病による歯槽骨吸収の程度が増加することを示した (Leuckfeld *et al*, *Respir Med*, 102, 488-494, 2008)。このことは、COPDと歯周病の関連性を予感させるものであるが、その詳細なメカニズムについては不明な点も多い。そこで本研究では、図2に示す作業仮説を設定し、歯周病菌感染度検査として歯周病細菌に対する血清IgG抗体価検査を利用して、COPD患者の病態と歯周病菌感染度の関連性を検討することを目的とした。



B. 研究方法

1. 対象

京都大学呼吸器内科通院中のCOPD患者63名(平均年齢:73.0歳)とした。除外基準として、①喫煙指数 < 20 packs-years, ②COPD以外の呼吸器疾患合併, ③5年以内の悪性疾患罹患, ④全身性ステロイドの定期服用の4項目を設定した(表1参照)。

	n = 63	
Age (yr)	73.0	(71.7-75.4)
Sex (M:F)	61:2	
Smoking status (C:F)	5:58	
Pack-years	65.5	(57.0-74.1)
BMI (kg/m ²)	22.0	(21.1-22.4)
FEV ₁ (% pred)	53.3	(50.2-58.9)
RV/TLC (%)	44.1	(42.7-45.8)
D _{co} /V _s	2.6	(2.4-2.9)
PaO ₂ (Torr)	72.4	(70.9-76.6)
PaCO ₂ (Torr)	39.7	(38.5-40.5)
Exacerbation frequency (/year)	1.9	(1.4-2.5)

Mean and interquartile range (95% confidence interval (CI))

2. 評価項目

COPD増悪の同定: Anthonisenの定義を修正した基準を用いた。

歯周病病原菌に対する血清IgG抗体価: 血清IgG抗体価は、Murayamaらの記載 (*Adv Dent Res*, 1988) に従い、患者の末梢血から分離した血清を用いてELISA法によって測定した。また、健常者の平均値よりも2SDを超えて高い血清抗体価を“陽性”と設定した。また、抗原として用いた歯周病細菌は、*Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) Y4, Aa SUNY67, Aa ATCC29523, *Capnocytophaga ochracea* (Co) S3, *Eichenerria corrodens* (Ec) FDC1073, *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Prevotella intermedia* (Pi) ATCC25611, Pi ATCC33563, *Porphyromonas gingivalis* (Pg) FDC381, Pg SU63, *Treponema denticola* (Td) ATCC35405, *Campylobacter rectus* (Cr) ATCC33238の8菌種(12菌株)とした。

炎症性メディエーターの測定: 血清中の高感度CRP、および喀痰中の総細胞数・分画、上清中IL-8およびTNF-alphaの濃度を測定した。

嚥下反射の評価: Simple two-step swallowing provocation test (STS-SPT)

を用いて行った (Teramoto *et al*, Lancet, 1999)。

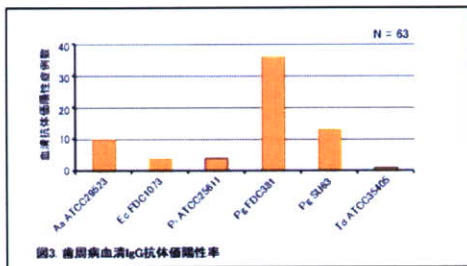
3. 倫理面への配慮

本研究は、京都大学の研究倫理委員会の承認を得て実施された。血清 IgG 抗体価の外注は、各々の血清試料をランダムに符号化された後に外注しており、患者情報等が外部に流出される危険性がない状況をアレンジした。

C. 研究結果

1. 血清歯周病抗体価陽性率

Pg FDC381 57% > Pg SU63 21% > Aa ATCC29523 16%の順に高率であった (図3)。



2. 陽性率に影響する因子

Pg FDC381 に対する血清 IgG 抗体価の陽性判定は、「年齢」が陽性：陰性 = 72.0±1.2 歳：75.5±1.3 歳 (P=0.03) となり、血清 IgG 抗体価陽性者の年齢が有意に低いことがわかった (表2)。

	Aa ATCC29523	Pg FDC381	Pg Su63
Age (yr)	0.51	0.03	0.62
Sex (M:F)	0.29	0.59	1.00
Smoking status (C:F)	0.18	0.64	1.00
BMI (kg/m ²)	0.60	0.78	0.72
FEV ₁ (% pred)	0.86	0.50	0.46
RV/TLC (%)	0.46	0.70	0.80
D _{CO} /V _A	0.06	0.34	0.48
PaO ₂ (Torr)	0.30	0.42	0.67
PaCO ₂ (Torr)	0.15	0.06	0.18
Inhaled corticosteroid (P/N)	0.16	0.07	0.38

Unpaired t test, and Chi squared test

3. 血清 IgG 抗体価と COPD 増悪との関連性

Pg FDC381, SU63 に対する抗体価陽性群で有意に増悪の程度が減少した (単変量解

析) (図5)。また、Pg FDC381, SU63 に対する抗体価陽性は頻回増悪の減少と関連していた (多変量解析) (表3)。

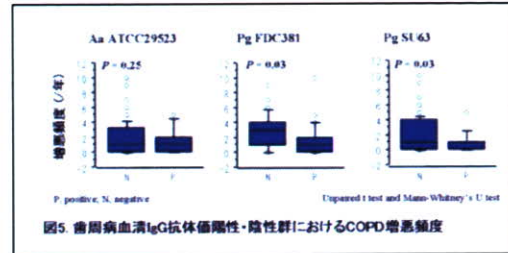


図5 歯周病血清IgG抗体価陽性・陰性群におけるCOPD増悪頻度

	頻回増悪 (3回/年以上)の有無					
	無		有		無	
陰性	35	18	13	14	31	19
陽性	8	2	30	6	12	1
	Aa ATCC29523		Pg FDC381		Pg Su63	
	P = 0.48		P = 0.006		P = 0.047	

Chi-squared test, Fisher's exact probability test

4. 血清 IgG 抗体価と嚥下反射の関連性

嚥下反射の増悪頻度は、すべての血清 IgG 抗体価と統計学的に有意な相関を認めなかった。また、血清抗体価と嚥下反射の増悪についても相加・相乗効果を認めなかった (図6)。

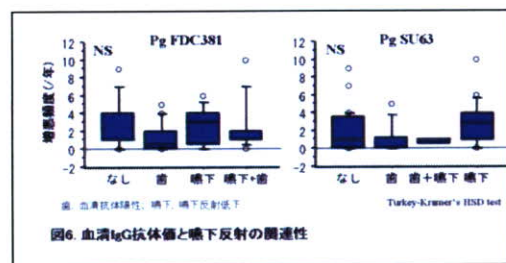


図6 血清IgG抗体価と嚥下反射の関連性

5. 血清 IgG 抗体価と炎症反応

抗体価陽性・陰性群で血漿 CRP、および喀痰上清中の IL-8・TNF-alpha 濃度に有意な差は認めなかった (図7)。

D. 考察

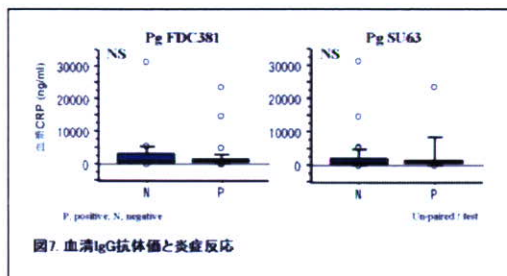


図7. 血清IgG抗体価と炎症反応

本研究は、歯周病細菌に対する血清 IgG 抗体価と COPD 増悪との関連性を調べたものである。我々の作業仮説においては、血清 IgG 抗体価の上昇、すなわち歯周病細菌感染度の上昇により COPD 増悪頻度が増加すると考えていた。しかしながら、今回、Pg FDC381 あるいは Pg SU63 に対する血清 IgG 抗体価上昇は COPD 頻回増悪の減少と統計学的に有意に関連しているという結果を得た。このことは、Pg FDC381 に対する血清 IgG 抗体価は、陰性例に比して陽性例で有意に年齢が低いとする結果で説明できるかもしれない。すなわち、COPD では加齢が増悪の危険因子の一つであり、その一因として免疫機能の弱体化が想定されていることから、この免疫機能の弱体化が本研究で得られた歯周病細菌に対する抗体産生性の低下という現象に反映している可能性がある。しかしながら、Pg FDC381 に対する血清 IgG 抗体価と年齢との関連性については、年齢に伴う残存歯数の減少による歯周病菌感染度の低下を反映しているだけかもしれない。すなわち、歯周病抗体価低下が、(1) 免疫機能の弱体化を反映しているのか、(2) 単に残存歯数の減少による低下を反映しており、COPD 増悪頻度の上昇とは関連性がないかいずれの可能性も考えられる。

以上のことから、今後、一連の病態における詳細なメカニズムについては、さらなる検討が必要である。すなわち、血清 IgG 抗体価と COPD 増悪との関連性をさらに深く検討するため、今回の研究で検討してい

なかつた COPD 患者の歯周病組織検査を行う必要があると考えている。具体的には、COPD 例で歯周病抗体価が歯周病を反映するかどうかを検討するため、少なくとも、患者の口腔のパノラマ X 線撮影等による画像診断を行い、COPD 患者の歯周病の状態を Validation することで、本研究の問題点は解決できる。さらに、免疫学的に COPD 患者の Th1/Th2 バランスの異常の可能性も考え、例えば、加齢に伴う T 細胞（特に CD4 + T 細胞, Th1）の活性化減少による Th2 側への免疫シフトが COPD 増悪の病態形成に関与するという反応も一考に値する。したがって、COPD 患者の末梢血好酸球、IgE、サイトカイン (IL-2, IFN- γ /IL-4, IL-5) の評価も今後の検討課題であろうと考える。

E. 結論

本研究から、疫学的な手法によって歯周病細菌に対する血清 IgG 抗体価と COPD 増悪との関連性を示唆する結果を得た。今後、さらに高齢者における口腔内感染度と COPD の関連について、分子レベルで検討する予定である。

F. 健康危険情報

特に記載事項なし。

G. 研究発表

特に記載事項なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特に記載事項なし。

—参考—

COPD (Chronic Obstructive Pulmonary