

(4) 研究に参加した場合に被験者の受ける利益・不利益、危険性

利益 あり 内容：

なし

不利益 あり 内容：採血時に、歯周病原細菌に対する血清 IgG 抗体価測定用に約 1 ml の血液を増量して行うこと。

なし

危険性 あり 内容：

なし (採血は熟練した医療技術者によって行われるので (真空採血管を使用), 何ら危険性はない。)

(5) 代諾者の選定

代諾者を置く。

代諾者を置かなければならない理由：対象が超高齢者なので、意思疎通困難な場合があるため。

被代諾者の種類

未成年 (20 歳未満 16 歳以上 16 歳未満)

未成年であっても 16 歳以上の場合は代諾者とともに本人の承諾も得る。

認知症等で本人の意思が確認できない成人

死者

その他 ()

代諾者の種類

父母 親権者 配偶者 成人の子 成人の兄弟姉妹又は孫

祖父母 同居の親族又はそれらの近親者に準ずると考えられる者

後見人 保佐人 その他 ()

代諾者を置かない。

(6) 損失補償

本研究の実施によって発生する損失に対する補償がある。

補償の内容：

本研究の実施によって発生する損失に対する補償はない。

8. 研究結果

(1) 研究結果の開示

研究結果を本人へ開示する。

原則として開示 希望者に開示

研究結果を本人へ開示しない。

理由：

研究結果を代諾者へ開示する。

原則として開示 本人の同意を条件として開示

希望者に開示

研究結果を代諾者へ開示しない。

理由：

■研究結果を家族等（遺族を含む）へ開示する。

■原則として開示 本人の同意を条件として開示

希望者に開示

研究結果を家族等（遺族を含む）へ開示しない。

理由：

(2) 研究結果の公開

■研究結果を公開する。

■開の方法：■論文発表 ■学会発表 インターネット掲載

その他（ ）

研究成果は公開しない。

理由：

(3) 特許権等

特許権等が発生する可能性がある。

その特許権等の帰属先：

岡山大学 研究者個人 その他（ ）

■特許権等が発生する可能性はない。

(4) 研究利益

研究の完成によって得られる経済的利益（企業からの寄付等。特許によるものを除く）の有無

あり その経済的利益の拠出機関（企業名等）：

その経済的利益の帰属先：

研究者個人 （ ）分野<科、部等> その他（ ）

■なし

9. 共同研究機関

■共同研究機関がある。 ■国内の機関 外国の機関

共同研究機関の名称（多数の場合は別紙に記載し添付）：小野市民病院，京都大学医学部

共同研究者 所属・職名・氏名（多数の場合は別紙に記載し添付）：

所属	職名	氏名
京都大学医学部附属病院呼吸器内科 (小野市民病院内科)	助教 (非常勤医師)	伊藤功朗
京都大学医学部附属病院呼吸器内科	講師	室繁郎
京都大学医学部附属病院呼吸器内科	教授	三嶋理晃

主管となる機関の名称：小野市民病院

本研究における岡山大学の役割（該当する項目はすべて記入）

研究の総括 ■検査 試料の採取

■その他：具体的に記入（患者の口腔内診査・検診，歯周病原細菌に対する血清 IgG 抗体

検査結果と口腔内診査の結果との統計学的関連の解析)

本研究における共同研究機関の役割 (該当する項目はすべて記入)

- 研究の総括 検査 (喀痰の培養細菌検査, 内科的一般臨床検査) 試料の採取
 その他: 具体的に記入 ()

他機関が主管となる場合の当該機関における倫理審査委員会の承認

- あり (承認通知書のコピーを添付)
 なし

外国の機関と共同研究を行う場合の適用する倫理指針の種類

- 日本の倫理指針
 相手国の倫理指針 (国名: _____ ※相手国の指針を添付 (訳文添付))

相手国の倫理指針を適用する理由:

- 以下のすべての条件 (a ~ d) を満たす。
a. 相手国において日本の指針の適用が困難
b. インフォームド・コンセントが得られている。
c. 個人情報が保護されている。
d. 相手国において科学的・倫理的妥当性について承認されている。

相手国の基準が日本の指針よりも厳格である。

共同研究機関はない。

10. 本研究の問い合わせ先

研究実施担当者

所属: 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻病態機構学講座歯周病態学分野

職名: 教授 氏名: 高柴正悟

学内内線番号: 6675 PHS: 2815

e-mail: stakashi@cc.okayama-u.ac.jp

疫学研究の補足事項

□介入研究

□人体から採取された試料を用いる。

□試料の採取が侵襲性を有する。

→文書によるインフォームド・コンセント必要(説明書・同意書・同意撤回書添付)

□試料の採取が侵襲性を有さない。(説明書・同意書・同意撤回書は添付不要)

→文書によるインフォームド・コンセント不要(説明書・同意書・同意撤回書不要)。

ただし、口頭によるインフォームド・コンセント必要。この場合説明内容および受けた同意に関する記録が必要。

説明内容及び受けた同意の記録方法：

□人体から採取された試料を用いない。

□個人単位で行う介入研究である。

→文書によるインフォームド・コンセント不要(説明書・同意書・同意撤回書不要)。

ただし、口頭によるインフォームド・コンセント必要。この場合、説明内容及び受けた同意に関する記録必要。

説明内容及び受けた同意の記録方法：

□集団単位で行う介入研究である。

→インフォームド・コンセント不要(説明書・同意書・同意撤回書不要)。

ただし、研究実施について情報(a.～d.)を公開し、研究対象者となることを拒否できるようにする必要あり。

a. 当該研究の意義、目的、方法

b. 研究機関名

c. 保有する個人情報に関して情報公開の求めに応じる手続き
(手数料が必要な場合はその額)

d. 問い合わせ、苦情等の窓口の連絡先

公開すべき事項の周知方法：

□提供者へ個別に通知

□インターネットへの情報公開及びポスター掲示

(ポスター掲示場所：)

□その他()

上記a～dについて、周知方法に応じた公開の内容について作成して添付すること。

■観察研究

■人体から採取された試料を用いる。

■試料の採取が侵襲性を有する。

→文書によるインフォームド・コンセント必要(説明書・同意書・同意撤回書添付)

試料の採取が侵襲性を有さない。

→文書によるインフォームド・コンセント不要(説明書・同意書・同意撤回書不要)。

ただし、口頭によるインフォームド・コンセント必要。この場合説明内容および受けた同意に関する記録必要。

説明内容及び受けた同意の記録方法：

人体から採取された試料を用いない。

既存試料等以外の情報に係る試料を用いる。

→インフォームド・コンセント不要(説明書・同意書・同意撤回書不要)。

ただし、研究実施について情報(a.～d.)を公開し、研究対象者となることを拒否できるようにする必要あり。

a. 当該研究の意義、目的、方法

b. 研究機関名

c. 保有する個人情報に関して情報公開の求めに応じる手続き
(手数料が必要な場合はその額)

d. 問い合わせ、苦情等の窓口の連絡先：

公開すべき事項の周知方法：

提供者へ個別に通知

インターネットへの情報公開及びポスター掲示

(ポスター掲示場所：)

その他 ()

上記a～dについて、周知方法に応じた公開の内容について作成して添付すること。

既存試料等のみを用いる。

→インフォームド・コンセント不要(説明書・同意書・同意撤回書不要)。

ただし、研究実施について情報(a.～d.)を公開する必要あり。

a. 当該研究の意義、目的、方法

b. 研究機関名

c. 保有する個人情報に関して情報公開の求めに応じる手続き
(手数料が必要な場合はその額)

d. 問い合わせ、苦情等の窓口の連絡先：

公開すべき事項の周知方法：

提供者へ個別に通知

インターネットへの情報公開及びポスター掲示

(ポスター掲示場所：)

その他 ()

上記a～dについて、周知方法に応じた公開の内容について作成して添付すること。

患者さんへの説明書

殿

上記研究に対して参加をお願いしています。もしよろしければあなたの自由意思によりご協力ください。

1. 研究の目的

今回あなたは、肺炎という細菌感染症にかかりました。近年、抗生物質が効きにくい細菌が増えています。抗生物質の効果などを調べたり、菌への抗体の有無を調べ、患者さんの病状との関係を見ます。

2. 調査方法について

喀痰の検査などで出てきた菌や、通常の検査で余った血液や尿を保存させていただくものです。のちほど、抗生物質が菌に有効か、菌の病原性がどのくらい強いのか、どの菌に対して患者さんが抗体を持つかなどを調べます。調査は、京都大学や岡山大学の専門施設に検体を送り、そこで行います。本調査に参加されても通常の医療費以外の追加負担はありません。

3. プライバシーの保護

この調査の結果は、学会や学術雑誌で発表されることもあります。患者さんの個人情報外部に公表されることは一切ありません。

平成 年 月 日

小野市民病院内科（京都大学医学部附属病院呼吸器内科） 伊藤 功朗

小野市民病院内科主治医

参考添付資料（小野市民病院倫理医承認済み書類）

同 意 書

私は、本研究の実施に際し、同研究に関する説明を別紙説明書および口頭により本研究担当医師から受け、下記の点を確認した上、参加することに同意します。

1. 本研究の目的・方法
2. 同意をいつでも撤回でき、また撤回しても不利益を受けず、病気に対する最善の処置を受けられること
3. プライバシーは最大限に尊重されること

患者氏名 _____

平成 年 月 日

本人(又は代諾者)署名 _____

参考添付資料 (小野市民病院倫理医承認済み書類)

分担研究報告

研究協力施設でのサンプリングおよびその結果

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・歯周歯内治療学分野
¹教授・²助教

研究要旨：平成 20 年度は、研究協力老人保健施設において当研究共通プロトコールの検診時調査票に基づいてサンプリングを行った。具体的には香川県内の病院および老健施設で入所(院)している合計 121 名について被験者基礎データの収集、口腔内診査および指尖採血を行った。現在、調査項目および検査値の統計処理を行っているところである。今回、統計処理とは別に調査項目について検討を行った。その結果、年齢は 61~101 歳(平均年齢 85.6±12.2 歳)、残存歯数の平均 6.0±8.13 本、無歯顎の者が 58 名(48%)、口腔乾燥がある者は 18 名(14.0%)、義歯使用は 58 名(42.1%)であった。また、口腔内の清掃状態が良好だったのは 57 名(47.1%)、口腔ケアを行っている者は 73 名(60.3%)であった。嚥下障害があると報告された者は 52 名(43.0%)、肺炎の既往のある者は 42 名(34.7%)であった。基礎疾患として脳血管障害がある者が 72 名(59.5%)、心臓疾患が 58 名(47.9%)であった。介護給付の状態を確認できたものは 84 名で、食事摂取の状態は全員の状態を把握できた。今回の調査項目の検討から施設入所者の抱える多様な問題の一端が垣間見えた。平成 21 年度は初回検査の 1 年後の検診・調査を行うだけでなく被験者の人数をより増やすべく努力する予定である。

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ームを形成し、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。

平成 20 年度は当研究課題の検診時プロトコールに基づき、協力施設において高齢者の検体採取および被験者基礎データの調査を実施することを目的に活動を行った。

B. 研究方法

1. 対象者

現時点までにサンプリングできたのは香川県に所在する病院および老健施設に入院・入所している者で当研究課題への協力の同意を得られた男女計 121 名(男 30 名, 女 91 名)である。

2. 調査項目

当研究課題の検診時プロトコールに基づき、以下の項目について調査・検査を行った。

(1) 口腔内診査

- ①残存歯数の調査およびその歯周病検査(歯周ポケット測定, 歯肉出血の有無, 歯石付着の有無)
- ②口腔乾燥の有無
- ③義歯の使用・清掃状況の調査
- ④口腔清掃状態の調査

(2) 看護記録および施設職員(介護職員または看護師)への聞き取りにより以下の項目を調査した。

- ①口腔ケアの有無およびその内容
- ②嚥下障害の有無
- ③基礎疾患の有無およびその病名
- ④肺炎の既往の有無
- ⑤介護給付の状況
- ⑥食事摂取の状況

(3) 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, 東京都中央区日本橋 3-2-14)を用いて歯周病血清抗体価を測定するための検体を採取した。病院入院中の被験者の検体は, 病院で行っている定期血液検査で採取した血液の残りを提供していただく形で検体採取を行った。

当初の予定として唾液採取を計画していた。しかし, 唾液分泌に使用する無糖ガムの咀嚼を指示通りに行えない者や, 行えた

としても必要量の確保に非常に時間がかかることが判明した。そのため, 主管の岡山大学と相談して高齢者からの唾液採取を行うことを断念することになった。

なお, 採取した検体は ID ナンバーにて管理を行い, 被験者名と検体を連結可能匿名化して扱った。

C. 研究結果

歯周病血清抗体価と調査項目との関連などの統計的処理は, 山手情報処理センター(東京都北区中里 2-18-5)にて処理している状況で, 最終結果が得られていない。

そこで, 今回の報告では血清抗体価以外の項目での分析を報告する。

被験者の内訳は男性 30 名, 女性 91 名で, 年齢は 61~101 歳(平均年齢 85.6±12.2 歳)であった。口腔内の状況としては, 残存歯数の平均は 6.0±8.13 本と標準偏差が大きな結果となった。これは無歯顎の者が 58 名(全体の 48%)いたことが原因となっている。

残存歯数を細かく見ると, 0 本: 58 名(48.0%), 1~4 本: 17 名(14.0%), 5~9 本: 15 名(12.3%), 10~14 本 9 名(7.4%), 15~19 本: 7 名(5.8%), 20 本~: 15 名(12.4%)であった。20 本以上の残存歯がある被験者の割合が高い結果となったが, 残存歯の状態はカリエスが進行して残根状態になっている歯も多く見受けられた。

口腔乾燥がある被験者は 18 名(14.0%)であった。義歯を使用している被験者は 58 名(42.1%)で, そのうち義歯清掃が良好だったのは 22 名(義歯使用者の 37.9%)であった。また, 口腔内の清掃状態が良好だったのは 57 名(47.1%)で, 無歯顎でも口腔内の食渣や舌苔が見られることで口腔内清掃が不良と判定されたものが 17 名(無歯顎者の 29.3%)いた。

訪問歯科医師・衛生士による口腔ケアを

行っている者は 73 名(60.3%)で、その内訳は清拭が 30 名(口腔ケアを受けている者の 41.1%)、嚥下訓練が 32 名(同 43.8%)、両方とも受けているのが 11 名(同 15.1%)であった。

嚥下障害があると報告されたものは 52 名(43.0%)だった。

基礎疾患として脳血管障害がある者が 72 名(59.5%)、心臓疾患が 58 名(47.9%)、糖尿病が 22 名(18.2%)、アルツハイマー病が 20 名(16.5%)、慢性腎不全が 10 名(8.3%)、パーキンソン病が 8 名(6.6%)などであった。圧倒的に脳心臓血管障害を有する者の割合が高い結果であった。また、慢性腎不全の割合が高い結果となったが、これは協力病院が人工透析を行っている施設であったことによるものである。

肺炎の既往のある者は 42 名(34.7%)であった。

介護給付の状態を確認できたものは 84 名で自立が 20 名(84 名中 23.8%)、要介護 1 が 1 名(同 1.2%)、要介護 2 が 9 名(同 10.7%)、要介護 3 が 23 名(同 27.4%)、要介護 4 が 13 名(同 15.5%)、要介護 5 が 18 名(同 21.4%)であった。

食事摂取の状態は普通食が 51 名(42.1%)、軟食が 41 名(33.9%)、流動食が 8 名(6.6%)、鼻注が 14 名(11.6%)、胃瘻が 7 名(5.8%)であった。

D. 考察

今回、調査票に記入した項目を検討してみた結果、いくつかの興味深い点が判明した。

当研究課題の大きなテーマである誤嚥性肺炎に関連する調査項目(“肺炎の既往”および“嚥下障害の有無”)に注目した。結果に示したように肺炎の既往のある者が 42 名、嚥下障害を有するものが 52 名いる結果であ

り、両項目を有する者は 30 名いることがわかった。肺炎の既往のある者の 71.4%で嚥下障害があるとの結果で、肺炎が誤嚥性肺炎であることを予想させるものとなった。また、代替栄養(経鼻や胃瘻)を行っている 21 名のうち 13 名(21 名中の 61.9%)に肺炎の既往があり、そのうち 12 名が嚥下障害があると報告されていた。この中には実際に VE 検査や VF 検査にて誤嚥性肺炎と診断されたことが理由で代替栄養となっている者がいた。

嚥下障害の有無は看護記録や施設職員からの聞き取りにより調査したが、実際に食事をしているところを観察すると食事のペースが異常に遅い者や、食事中に咳き込んでいる者など、摂食嚥下障害が強く疑われる者でも“嚥下障害なし”と記載されている事例があった。また、今回の調査項目には嚥下障害の分類を調査することは含まれていないが、先行期から食道期までの各ステージでの障害が存在していることが予想できる状態であった。

肺炎の既往に関しても、“熱発はあるが肺炎との診断に至っていない”などの理由で肺炎の既往の項目が“無”になっているケースがあることが判明した。

E. 結論

当研究課題への協力で同意を得られた 121 名に対して検診・調査を行った。歯周病血清抗体価以外の調査項目を分析したところ、高齢者が抱える QOL や ADL などの問題が垣間見える結果であった。

平成 21 年度は初回検査 1 年後の検診・調査を行う以外に、歯周病血清抗体価との関連の精度をより高くするために、協力いただける施設を増やし被験者数を増やしていく予定である。

特に記載事項なし。

F. 健康被害情報

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。

G. 研究発表

歯周病原性細菌の血漿 IgG 抗体価と唾液生化学検査に関する研究

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

研究要旨：わが国における歯周病罹患率は上昇傾向にあり、さらに若年有病者も増加している。一方、歯周病と全身の健康状態との関連が明らかになりつつあることから、歯周病予防は国民の健康の保持・増進に極めて重要となっている。特に高齢者においては、歯周病原性細菌を含む口腔細菌叢による疾病対策が急務となっている。そこで、本研究は血液あるいは唾液を検体とする歯周病検査法を検討し、さらに検査結果間の関連性についても分析した。対象は某企業にて実施された定期健康診断受診者 179 名（男子：121 名，女子：61 名，平均年齢：43.4±8.2 歳）と特別養護老人ホーム・介護老人保健施設に入院・入所している者 70 名（男子 12 名，女子 58 名，平均年齢：82.7±10.5 歳）である。検査用の検体として、受診時に指尖血漿と刺激唾液を採取した。血液検査項目は、歯周病原性細菌に対する血漿 IgG 抗体価 (*P.g*, *P.i*, *A.a*, *E.c*) を測定した。唾液生化学検査としては、ヘモグロビン(Hb)量と LDH (lactate dehydrogenase) 活性を測定した。なお、定期健康診断受診者については、2004 年時に測定した ALP (alkaline phosphatase), AST (aspartate amino transferase) および ALT のデータについても検討対象に加えた。さらに、歯周組織検査として CPI 法による口腔診査を行った。定期健康診断受診者の結果は以下の通りであった。*P.g* に対する抗体価は、CPI 値が大きいほど有意に高値を示した。同様に唾液 LDH 活性と Hb 量も CPI 値が大きい群で高値を示す傾向にあった。血漿 IgG 抗体価と唾液検査結果の関連については、*P.g* 抗体価と LDH との間に有意な関連が認められた。また、*P.g* 抗体価と口臭検査結果と間にも関連がみられた。以上の結果から、血漿 IgG 抗体価、唾液 Hb および LDH は歯周疾患検査項目として有用であることが示された。老人施設における対象者については、現時点で唾液検査のみが終了しており、歯周組織状態が悪い対象者で LDH 活性が高値を示す傾向にあった。以上のことより、今後これらの検査を組み合わせることにより、歯周疾患の病態をより詳細に評価できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

歯科領域の二大疾患である齲蝕と歯周病は、共に口腔微生物による感染症であり、またそれらの発症や進行には様々な生活習慣が関与している^{1),2)}。わが国における齲蝕罹患率はおおむね減少傾向にあるが、歯周病のそれは70%を超える高値が示されている³⁾。加えて、歯周病は単に口腔局所にと

どまらず、全身的な健康にも影響を及ぼすことが明らかになってきており^{4~6)}、その対策は国民の健康の保持増進に極めて重要な課題といえる。現在、歯周治療は基本治療、薬物療法、外科治療および再生療法等が確立されており、これらが患者の病態に応じて施されている。その一方で、歯周病予防に関してはブランクコントロール以外の効果的な方法が示されていない。この

ような状況下では、歯周病対策として早期発見・早期治療を目的とする第二次予防が有用な予防手段となる。しかし、従来の集団検診等におけるスクリーニング検査の多くは、歯科医師が歯周組織破壊の程度を評価する視診・触診型検査にとどまり、自覚症状なく慢性的に進行する歯周病においては必ずしも早期発見につながらない場合も多い。したがって、歯周病の発症や進行を予測する検査法の開発は極めて重要と考えられる。加えて高齢者の全身的な健康管理にも重要な検査法となりうる。

一般医科領域で実施されている各種臨床検査は、患者・被検者の重要な生体情報を提供することから、疾病のスクリーニング、診断および治療効果の判定等において重要な役割を担っている。前述のごとく、従来行われている歯周病検査は視診・触診型検査がほとんどで、唾液を検体とする検査の報告は少ない。唾液は各唾液腺から分泌された化学成分のほかに、歯肉溝滲出液、白血球、剥離上皮細胞などの生体成分や、微生物とその代謝産物等を含むことから複雑な様相を呈しているが、口腔の状態をよく反映しているとも考えられる。唾液を検体とする歯周病検査としては、潜血量や酵素活性を測定する生化学検査や歯周病原細菌検査が検討されている。生化学検査としては、ヘモグロビン量(Hb)やLDHをはじめとする数種類の酵素測定が歯周病のスクリーニングに有用であることが報告されている⁷⁻¹⁰⁾。また、細菌検査については、歯周病原細菌の定量が歯周病の罹患状況を評価する上で有用であることも報告されている¹⁰⁾。さらに、*Porphyromonas gingivalis* (Pg) 菌数測定は、歯周病の発症や進行に有用であることも示されている¹¹⁾。従って、それらの検査結果から歯周病の発症や進行を予測することが可能であれば、歯周病の診断や治療に対し、極めて重要な意義をもつものと考えられる。さらに、

全身の健康状態の把握や管理にも有用と思われる。

通常、感染症に対する検査としては、病原細菌の検出・同定や血液中の抗体価測定が行われる。歯周病は感染症であることから、病原菌に対する血液抗体価測定は有用と思われる¹²⁾。特に微量の血液試料で測定が可能な検査は、歯科領域でも十分に活用出来ると考える。そこで本研究では、唾液を用いた生化学・細菌検査と血液を用いた抗体価測定を行い、両検査結果の関連性について検討した。

B. 研究方法

1. 対象

対象は都内某企業にて実施された定期健康診断受診者 179 名 (男子: 121 名, 女子: 61 名, 平均年齢: 43.4±8.2 歳) と特別養護老人ホーム(東京)・介護老人保健施設(埼玉)に入院・入所している者 70 名 (男子 12 名, 女子 58 名, 平均年齢: 82.7±10.5 歳) である。

なお、定期健康診断受診者については、2004 年時に実施した検査結果についても今回検討対象とした。本研究を実施するにあたり、対象者あるいは保護者に対し文書と口頭にて研究内容に関する十分な説明を行った後、同意を得た。

2. 口腔内診査

唾液を採取した後、同一の歯科医師 1 名により、以下の項目について口腔内診査を実施した。

- 1) 現在歯数
- 2) 歯周ポケット深さ(Probing Depth: PD)
WHO プローブ(TPS プローブ, ビバデント社, リヒテンシュタイン)を用い、約 20g の挿入圧で歯周ポケットに挿入し、軽く抵

抗があった時点での歯肉辺縁部の目盛りをmm単位で測定した。本研究では、頬側面近心、頬側面中央、頬側面遠心の3点および舌側・口蓋側の中央1点、合計4点を測定した。

3. 唾液生化学検査

食事摂取2~3時間後に、香料および甘味料などを含まないガムベース(1g)を5分間咀嚼させ、その間に流出した唾液を滅菌スピッツ管に採取した。採取した唾液は測定まで氷冷下に保存した。測定は(株)ビー・エム・エル検査センター(埼玉)にて行った。生化学検査として、LDH活性とHb量を実施した。

4. 唾液中の歯周病原細菌検査

前述の方法にて採取した唾液を検体として、*Porphyromonas gingivalis* (*P.g*)数を測定し、同時に求めた総細菌数に対する*P.g*割合(%)を算出した。測定には、Lyonsら¹³⁾によるTaqManシステム(ABI PRISM 7700, TaqMan, 米国)を用いた定量リアルタイムPCR法¹⁴⁾を応用した。細菌DNAの抽出は、唾液200 μ lに1/10量のDNA抽出試薬(FastBreak, Promega, 米国)を加えた後、自動核酸抽出装置(ACE-96, Bio Tec, 東京)を用いて行った。定量リアルタイムPCR法の反応条件を表1に、使用したプライマーを表2にそれぞれ示した。総細菌数の算定については、核酸のうち16srRNAは細菌の種類にかかわらず比較的その塩基配列が保存されていることから、本遺伝子を検出することにより行った。

表1 定量リアルタイムPCR法の反応条件

反応条件(Total 21.0)	
TaqMan Universal	
PCR Master Mix	: 12.5 μ l
Sense primer	: 1 μ l (20 pmol)
Anti-sense primer	: 1 μ l (20 pmol)
TaqMan probe	: 1 μ l (20 pmol)
TaqMan DNA	: 5 μ l (検体濃度の1%量のDNA)
DW	: 4.5 μ l
温度サイクル	
95 $^{\circ}$ C, 2 min	} 45 cycles
↓	
95 $^{\circ}$ C, 10 min	
↓	
95 $^{\circ}$ C, 15 sec	
↓	
59 $^{\circ}$ C, 1 min	
↓	
25 $^{\circ}$ C, hold	

表2 歯周病原細菌の検出に用いたプライマー

<i>P. gingivalis</i> (16s rRNA)	
729-1,132 (404 bp)	
f primer	5'-AGGCAGCTTGCCATACTGCG-3'
r primer	5'-ACTGTTAGCAACTACCGATGT-3'

5. 血漿IgG抗体価の測定

血漿は被験者の指尖からデバイスキットを用いて採取した。歯周病原性細菌として、*P.g*, *Prevotella intermedia* (*P.i*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A.a*), *Eikenella corrodens* (*E.c*)を用い、それぞれに対するIgG抗体価を測定した。測定はMurayamaら¹⁵⁾により報告されたELISA法の変法にて行った。抗体価の評価にあたっては、(-), (\pm), (+)の3段階のランクを設定した。それら基準については表3に示した。なお、測定は(株)リージャ(長崎)に外注した。

表3 血漿抗体価による判定基準

菌種	判定		
	-	\pm	+
<i>P.g</i>	10未満	10~15.0未満	15.0以上
<i>A.a</i>	1未満	1~2.5未満	2.5以上
<i>E.c</i>	1未満	1~2.5未満	2.5以上
<i>P.i</i>	1未満	1~2.5未満	2.5以上

C. 研究結果

表4 CPIと血漿・唾液検査結果との関連

	CPI						検出率
	0		1		2		
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
血漿 IgG抗体価	7.32	6.36	27.4	9.81	2.24	2.24	0.248
血漿 P.g抗体価	4.21	6.26	4.77	7.36	6.36	6.26	0.405
血漿 A.a抗体価	17.26	22.81	15.59	14.76	21.82	14.21	0.139
血漿 E.c抗体価	8.89	6.47	8.82	8.22	6.26	6.26	0.797
ALDH	92.46	88.27	76.74	78.22	84.26	81.87	0.167
ALT	35.89	25.46	44.37	46.15	38.26	36.37	0.317
LDH	189.87	127.28	221.85	139.24	172.26	168.88	0.888
AST	287.19	188.22	197.46	192.51	368.26	187.48	0.002
ALP	5.26	7.42	6.27	7.82	7.82	7.82	0.888
唾液 IgG抗体価	7.19	16.74	29.25	188.94	2.76	0.817	
唾液 P.g抗体価	9.24	36.24	25.25	178.14	1.42	1.42	0.274
唾液 A.a抗体価	1799.82	1284.88	8779.82	8828.88	8888.88	8888.88	2.748
唾液 E.c抗体価	10.88	10.88	10.88	17.87	4	0.888	
唾液 A.a抗体価	0.19	9.34	0.82	9.25	0.25	0.25	0.288

表4に定期健康診断受診者のCPI別にみた血漿IgG抗体価と唾液検査結果について示した。なお、2004年の調査においてCPI3の者は1名のみであった。Pg抗体価はCPIが高い者で高値を示す傾向にあったが、他の3菌種に対する抗体価はいずれもCPIとの関連はみられなかった。LDH, AST, ALTおよびALP活性はCPI0と1との間に有意な差はみられなかった。LDH活性はCPI0, 1の者に比べ3で高値を示す傾向にあった。Hb量は、CPI0の者に比べ、2で高値を示す傾向にあったが、3の者では逆に低値であった。Pg数はCPI0の者に比べ2で高値を示す傾向にあった。次にCPIと血漿IgG抗体価との関連について検討した結果を表5に示した。IgG抗体価の分類は表3に示したごとく行った。Pgに対する抗体価が陽性の者はCPI0に比べCPI2で有意に多かった。これに対して、A.a, E.c, およびPiではCPIとの関連はみられなかった。表6に血漿IgG抗体価と唾液生化学・細菌検査結果との関連を示した。抗体価で有意な関連が認められたのは、E.cとA.a, E.cとPiおよびPgとPiの組合せであった。

表5 CPIと血漿抗体価との関連

	CPI					合計	検出率
	0	1	2	3	4		
血漿A.a抗体価	-	83	23	2	2	110	
+	4	5	0	0	0	9	0.087
+	0	1	0	0	0	1	
血漿E.c抗体価	-	88	19	2	2	111	
+	1	0	0	0	0	1	1.000
血漿Pg抗体価	-	88	17	0	0	105	
+	2	7	0	0	0	9	0.044
+	19	15	2	0	0	36	
+	81	20	2	0	0	103	
血漿Pi抗体価	-	5	1	0	0	6	0.278
+	1	0	0	0	0	1	

表6 血漿IgG抗体価・唾液検査結果との関連

	血漿IgG抗体価						唾液IgG抗体価						唾液生化学					
	0	1	2	3	4	合計	0	1	2	3	4	合計	LDH	AST	ALT	ALP		
血漿IgG抗体価	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	
唾液IgG抗体価	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	
LDH	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	
AST	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	
ALT	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	
ALP	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	

また2004年Hbは、ALT, AST, ALPおよびLDHと、2008年HbはLDHとそれぞれ有意な関連性が認められた。表7に血漿IgG抗体価と唾液生化学・細菌検査結果の関連を分析した結果を示した。Pgに対するIgG抗体価とLDH活性に有意な関連が認められた。老人施設における対象者については、無菌顎や残存歯数が少ない者が多く、CPIスコアを求めることが出来なかった。しかし、菌周組織の状態が悪い者ほどLDH活性が高い傾向にあった(データ未提示)。現在、血漿IgG抗体価を測定中であり、データが揃い次第詳細な検討を行う予定である。

表7 血漿IgG抗体価と唾液検査結果との関連

	血漿IgG抗体価						唾液IgG抗体価					
	0	1	2	3	4	合計	0	1	2	3	4	合計
LDH	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500
AST	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500
ALT	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500
ALP	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500
唾液Pg抗体価	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500
唾液A.a抗体価	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500
唾液E.c抗体価	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500
唾液Pi抗体価	100	100	100	100	100	500	100	100	100	100	100	500

D. 考察

菌周病は口腔に生息する菌周病原性細菌による感染症であり、喫煙習慣などが関連する生活習慣病でもある。また近年、菌周病原性細菌を含む口腔常在菌が全身の健康状態にも影響を及ぼすことが明らかになり

つつある。なかでも高齢者や要介護高齢者における嚥下性肺炎（誤嚥性肺炎）の発症に口腔常在菌が関与しており、その予防に口腔清掃が効果的であるとの報告がなされている¹⁶⁻¹⁸⁾。さらに、わが国における歯周病罹患率は高く、また高齢化がより進んでいる状況を考慮すると、歯周病原性細菌を含む口腔細菌の適切なコントロールは国民の健康の保持・増進に極めて重要と思われる。

従来の歯周病診査は歯周組織の破壊程度を視診・触診あるいはエックス線で評価するものがほとんどで、スクリーニング検査においても歯周ポケットをプローブで測定する方法が採られている。このような手法が用いられている理由として、歯周組織は歯科医師の視診・触診が容易であることがあげられる。しかしその反面、ごく初期の歯周組織の変化を鑑別することは非常に難しい。

唾液は口腔固有の物質であり、歯周組織の変化など口腔の様々な状態を反映している。我々はこれまでに、唾液を検体とする生化学および細菌検査が歯周病のスクリーニングや罹患状況の評価に有用であることを報告した⁷⁻¹¹⁾。さらに、歯周病は感染症であることから血中の IgG 抗体価の測定は病因菌の感染状況を知る上で有用である¹²⁾。

そこで本研究は、唾液を検体とする生化学検査 (LDH, AST, ALT, ALP, Hb 量) と細菌検査 (総菌数, *P.g* 割合) および血漿を検体とする歯周病原性細菌 (*P.g*, *P.i*, *A.a*, *E.c*) に対する IgG 抗体価を測定し、歯周組織との関連並びに検査データ間の関連を検討した。

定期健康診断受診者における CPI と血漿 IgG 抗体価との関連については、CPI の高い者ほど *P.g* 抗体価が高値を示す傾向にあった。歯周病の発症や進行に関与する細菌の種類は多く、それらの病原性も異なってい

るものが多い。本研究では、複数種の IgG 抗体価間で相関が認められたが、*P.g* 以外は CPI との関連はみられなかった。このことは、*P.i*, *A.a* および *E.c* はいずれも歯周病原性細菌であるものの、*P.g* の病原性ももっとも強く、その抗体価測定は歯周病検査として有用であることが推察された。唾液生化学検査では LDH 活性が CPI と関連しており、従来の報告を支持する結果であった。しかし、Hb 量は CPI 3 の者において 0 や 1 の者より低値であったことから、重度の歯周病では出血を認めない場合もあることが考えられた。*P.g* に対する血漿 IgG 抗体価を (+), (±) および (-) に分類し、唾液検査結果と比較したところ、LDH 活性と有意な関連が認められた。IgG 抗体価は細菌の感染結果を示し、唾液中 LDH は歯周組織の炎症の程度を示している。従って、両検査は必ずしも同様な意義をもつ歯周病のマーカーではないが、これらを組み合わせることにより、発症の予測や予後を推測する上で有用となることが考えられた。老人施設における対象者については、歯周組織の状態が悪い者ほど唾液 LDH 活性が高値であった。従って唾液中の LDH 活性が高い者では歯周病原性細菌の感染を受けている可能性があることから、口腔局所のみならず全身的な健康管理の点からも口腔細菌叢の適切なコントロールの必要性が示された。

E. 結論

唾液中の LDH 活性と *P.g* に対する血漿 IgG 抗体価は、歯周病の検査項目として特に有用であることが示された。

F. 健康被害情報

特に記載事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

特に記載事項なし。

2. 学会発表

10. 佐藤勉ら, 歯周病原性細菌に対する血漿 IgG 抗体価と唾液生化学検査結果の比較検討, 平成 21 年 5 月 15 日, 第 52 回春期日本歯周病学会学術大会 (平成 22 年 5 月 15 日, 岡山), 演題登録。
11. 三橋千代子ら, 企業内定期健康診断に歯周病生化学検査を追加して, 第 52 回春期日本歯周病学会学術大会 (平成 21 年 5 月 15 日, 岡山), 演題登録。
12. 野村義明, 佐藤 勉, 花田信弘, 鴨井久一 唾液による歯周病のスクリーニング 第 53 回日本唾液腺学会, 平成 20 年 12 月 6 日, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

特に記載事項なし。

参考文献

- 1) Clarke, N.G., Hirsch, R.S. : Personal risk factors for genalized periodontitis, J. Clin. Periodontol., 22 : 139-145, 1995.
- 2) Papanou, P.N. : Periodontal diseases : epidemiology, Ann. Periodontol., 1:1-36, 1996.
- 3) 厚生労働省医政局歯科保健課編 : 平成 11 年歯科疾患実態調査報告, (財) 口腔保健協会 14-27, 2001 年.
- 4) Firatli, E. : The relationship between clinical periodontal status and insulin-dependent diabetes mellitus. Results after 5 years, J. Periodontol., 68 : 136-40, 1997.
- 5) Wakai, K., Kawamura, T., Umemura, O., Hara, Y., Machida, J., Anno, T., Ichihara, Y., Mizuno, Y., Tamakoshi, A., Lin, Y., Nakayama, T. and Ohno, Y.: Associations of medical status and physical fitness with periodontal disease, J. Clin. Periodontol., 26 : 664-72, 1999.
- 6) D'Aiuto, F., Ready, D. and Tonetti, M.S. : Periodontal disease and C-reactive protein-associated cardiovascular risk, J. Periodontal Res., 39 : 236-41, 2004.
- 7) 中村一雄, 佐藤 勉, 八重垣健 : 歯周病のスクリーニングテストの開発 - 唾液を用いた生化学検査について -, 日歯医療管理誌, 41 : 84-91, 2006.
- 8) Nomura, Y., Tamaki, Y., Tanaka, T., Arakawa, H., Tsurumoto, A., Kirimura, K., Sato, T. and Hanada, N.: Screening of periodontitis with salivary enzyme tests, J Oral Science, 48:177-185, 2006.
- 9) Furuya, M., Nomura, Y., Tamaki, Y., Sato, T., Hanada, N., Kamoi, K. and Arakawa, H.: Community based screening for periodontitis using salivary test, Bull. Kanagawa Dent. Col., 36:3-9, 2008.
- 10) 中村瑞美, 田中とも子, 佐藤 勉, 八重垣健 : 唾液を用いた歯周病原性細菌検査の有用性の検討, 日歯医療管理誌, 41 : 84-91, 2006.
- 11) 鈴木晴子, 田中とも子, 佐藤 勉, 八重垣健 : 歯周病の発症および進行による唾液酵素と *Porphyromonas gingivalis* の変化, 日歯医療管理誌, 42:285-294, 2008.
- 12) 大山秀樹, 岡本慎治, 西村英紀, 新井英雄, 高柴正悟, 村山洋二 : 歯周病原性細菌に対する血清 IgG 抗体を測定することによって集団検診で若年性歯周炎患者を検出する方法に関する

研究, 岡山歯誌, 20 : 181-191, 2001.

- 13) Lyons, S.R., Griffen, A.L. and Leys, E.J. : Quantitative real-time PCR for *Porphyromonas gingivalis* and total bacteria, J. Clin. Microbiol., 38 : 2362-2365, 2000.
- 14) Miyazaki, A., Yamaguchi, T., Nishikata, J., Okuda, K., Suda, S., Orima, K., Kobayashi, T., Yamazaki, K., Yoshikawa, E. and Yoshie, H. : Effects of Nd:YAG and CO₂ laser treatment and ultrasonic scaling on periodontal pockets of chronic periodontitis patients, J. Periodontol., 74 : 175-180, 2003.
- 15) Murayama, Y., Nagai, A., Okamura, K., Kurihara, H., Nomura, Y., Koikeguchi, S. and Kato, K.: Serum immunoglobulin G antibody to periodontal bacteria. Adv. Dent. Res., 2:339-345, 1988.
- 16) 弘田克彦, 米山武義, 太田昌子, 橋本賢二, 三宅洋一郎 : 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.
- 17) 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, 2000.
- 18) Margaret, S.T., Geroge, W.T and Dennis, E.L.: Aspiration pneumonia; Dental and oral risk factors in older veteran population, Am. Geriatr. Soc., 49:557-563, 2001.

唾液検査によるスクリーニングのための基準値設定に関する研究

研究分担者 野村義明

鶴見大学歯学部 探索歯学講座・准教授

研究要旨：口腔内を精密に診査可能な歯科医院通院患者 220 名に対し、歯周病関連のパラメータである歯周ポケットおよび歯周ポケット測定時の歯周ポケットからの出血 (Bleeding on probing: BOP), CPI, 口腔衛生状態の指標である Oral hygiene Index Simplified : OHI-S を測定し、唾液検査として唾液中の乳酸脱水素酵素 (Lactose dehydrogenase: LDH), ヘモグロビン (Hb) を測定した。唾液検査値との相関を検討するとともに、各指標の唾液検査値への寄与率を重回帰分析により検討を行った。その結果、唾液中の乳酸脱水素酵素 (LDH) の測定においては、検査値を口腔衛生状態、唾液量で補正する必要があることが示唆された。特に口腔乾燥症を示す高齢者や口腔内に大量の歯垢や食物残渣が蓄積されている高齢者に対して唾液検査を行う場合には注意が必要である。

A. 研究目的

高齢者の誤嚥性肺炎のスクリーニングにおいて口腔内の衛生状態は重要な因子である。しかし、実際には高齢者においては、口腔内を精密かつ正確に診査、診断を行うことは、非常に困難である。その一方で、唾液は非侵襲的にかつ容易に採取可能であり、主クリーニング用の検体として適した要素が多い。本研究課題においては、口腔内を精密に診査可能な歯科医院通院患者に対し、歯周病関連のパラメータである歯周ポケットおよび歯周ポケット測定時の歯周ポケットからの出血 (Bleeding of pocket: BOP), CPI, 口腔衛生状態の指標である Oral hygiene Index Simplified : OHI-S) を測定し唾液検査値との相関を検討するとともに、各指標の唾液検査値への寄与率を重回帰分析により検討を行った。

B. 研究方法

静岡県歯科医師会会員の 6 カ所の歯科診療所に協力を依頼し、6 カ所の歯科医院に通院する歯科治療が終了後でメンテナンス中の患者 220 名を対象とし、唾液検査、口腔内診査を行った。唾液検査としては唾液中の乳酸脱水素酵素 (Lactose dehydrogenase: LDH), ヘモグロビン (Hb) を測定した。検査は検査会社である BML に依頼した。口腔内診査としては、歯の状況として現在歯数、う蝕歯数、処置歯数、未処置歯数、喪失歯数および DMF 歯数を算出した。歯周組織の状態としては、現在歯数全てに対して 6 点法で歯周ポケットを測定し、ポケット測定後の出血の有無を記録した。また CPI の算出も行った。口腔衛生状態の指標としては、OHI-S を算出した。