

高齢者施設における口腔ケア使用物品の現状と課題  
 - 2 県の施設スタッフへの調査から -

研究協力者 原 等子 新潟県立看護大学老年看護学領域

研究代表者 柿木 保明 九州歯科大学摂食機能リハビリテーション学分野

研究要旨

高齢者の口腔ケアに係わるケア物品の使用状況について調査・分析を行った。2 県で 150 施設 293 件の回答が得られた。使用物品は清掃物品で歯ブラシが多く、次いでガーゼ、スポンジブラシ、舌ブラシの順であった。洗浄・消毒剤では、歯磨き以外でイソジンガーグルが多かった。保湿、粘膜保護のために物品を使用している施設は少なく、リップクリームの使用が一番多かった。現在使用している物品が効率よく使用されているかの検討も必要であると同時に、効果的な物品の使用に関する積極的な情報提供が期待される。

A. 研究の目的

現在、高齢者ケアにおける口腔ケアは、摂食嚥下や唾液分泌機能など口腔機能自体の維持向上として位置づけられ、肺炎予防以外の口腔ケア効果が期待されている。看護や介護の現場では、日常的に口腔ケアが実施されているが、その知識や技術の普及が不可欠であることは昨年報告している。ケア用品の選択についても、同様の状況があり、その要因と対策を検討すべく、分析を行った。

B. 研究対象および方法

- 1) 調査時期：2007 年 1 月
- 2) 調査対象：知識、技術の認識と研修に関する現状調査について、九州および北陸に位置する 2 県の介護老人保健施設および介護老人福祉施設の全 439 施設に勤務する看護職および介護職に調査した（表 1, 2）。
- 3) 調査方法：質問紙調査を郵送法で実施した。それぞれの施設で看護職と介護職各 1 名に回答を依頼し、150 施設から回答を得た。看護職の回答は 132 施設 135 件（回収率 30.1%）、介護職の回答は 149 施設 158 件（回収率 33.9%）であった。
- 4) 調査内容：口腔ケアに使用している器具や薬剤の使用状況を口腔清掃用品、口腔洗

浄・消毒剤、口腔粘膜保護材の 3 つの目的に分け質問した。

- 5) 分析方法：調査結果を集計し、統計的処理は SPSS16.0J を用い、Mann-Whitney U 検定により分析した。
- 6) 倫理的配慮：回答は個人や施設の匿名性を守り管理し、分析を行った。

表 1 対象施設

施設		介護老人	介護老人	合計	回収率 (%)
		保健施設	福祉施設		
施設	発送	169	270	439	34.2
	回収	54	96	150	
回答 (件)	発送	507	810	1317	25.4
	回収	125	210	335	

表 2 回答者の属性

職種	管理職	中間管理職	非管理職	無回答	総計
看護職	3	54	49	29	135
介護職	1	54	54	49	158
総計 (%)	4 (1.4)	108 (36.7)	103 (35.2)	78 (26.6)	293

C. 研究結果 結果を表 3 に示す。

- 1) 口腔清掃用品の使用について  
 歯ブラシはほとんどの施設で使用していた。次いで多かったのはガーゼで、スポンジブラシの使用は 6 割程度であった。介護老人保健施設で歯棒、舌ブラシ、歯間ブラシの使用が有意に多かった。看護職と介護職による使用物品の違

表3 口腔ケア物品の使用状況

	介護老人福祉施設 (N 187)		介護老人保健施設 (N 106)		カイニ乗値	看護職 (N 135)		介護職 (N 158)		カイニ乗値
	件数	(%)	件数	(%)		件数	(%)	件数	(%)	
口	歯ブラシ	180 (96.3%)	106 (100.0%)	0.126	131 (97.0%)	155 (98.1%)	0.867			
腔	豚毛歯ブラシ	38 (20.3%)	15 (14.2%)	0.168	21 (15.6%)	32 (20.3%)	0.313			
清	ワンタフトブラシ	5 (2.7%)	0 (0.0%)	0.087	1 (0.7%)	4 (2.5%)	0.242			
掃	歯間ブラシ	40 (21.4%)	12 (11.3%)	0.026 *	25 (18.5%)	27 (17.1%)	0.723			
用	義歯用ブラシ	81 (43.3%)	40 (37.7%)	0.296	50 (37.0%)	71 (44.9%)	0.189			
品	スポンジブラシ	111 (59.4%)	58 (54.7%)	0.351	85 (63.0%)	84 (53.2%)	0.073			
	舌ブラシ	103 (55.1%)	42 (39.6%)	0.007 **	68 (50.4%)	77 (48.7%)	0.724			
	ガーゼ	140 (74.9%)	70 (66.0%)	0.065	101 (74.8%)	109 (69.0%)	0.216			
	脱脂綿	46 (24.6%)	20 (18.9%)	0.230	31 (23.0%)	35 (22.2%)	0.837			
	綿棒	54 (28.9%)	15 (14.2%)	0.003 **	32 (23.7%)	37 (23.4%)	0.922			
	デンタルフロス	11 (5.9%)	3 (2.8%)	0.228	5 (3.7%)	9 (5.7%)	0.435			
	摂子	12 (6.4%)	6 (5.7%)	0.770	13 (9.6%)	5 (3.2%)	0.020 *			
	超音波洗浄機	5 (2.7%)	3 (2.8%)	0.955	2 (1.5%)	6 (3.8%)	0.230			
	コッヘル	8 (4.3%)	1 (0.9%)	0.107	8 (5.9%)	1 (0.6%)	0.008 **			
口	歯磨き粉	155 (82.9%)	90 (84.9%)	0.880	110 (81.5%)	135 (85.4%)	0.442			
腔	デンタルリンス	38 (20.3%)	23 (21.7%)	0.833	23 (17.0%)	38 (24.1%)	0.150			
洗	イソジンガーグル	134 (71.7%)	75 (70.8%)	0.705	103 (76.3%)	106 (67.1%)	0.060			
浄	義歯洗浄剤	128 (68.4%)	77 (72.6%)	0.579	89 (65.9%)	116 (73.4%)	0.194			
・	緑茶	67 (35.8%)	30 (28.3%)	0.159	42 (31.1%)	55 (34.8%)	0.535			
消	番茶	16 (8.6%)	17 (16.0%)	0.058	16 (11.9%)	17 (10.8%)	0.748			
毒	ハチアズレ	6 (3.2%)	4 (3.8%)	0.818	7 (5.2%)	3 (1.9%)	0.119			
剤	ハガード	3 (1.6%)	0 (0.0%)	0.186	1 (0.7%)	2 (1.3%)	0.662			
口	絹水	21 (11.2%)	5 (4.7%)	0.055	13 (9.6%)	13 (8.2%)	0.657			
腔	ウェットケア	16 (8.6%)	6 (5.7%)	0.347	9 (6.7%)	13 (8.2%)	0.628			
粘	オーラルバランス	35 (18.7%)	14 (13.2%)	0.203	24 (17.8%)	25 (15.8%)	0.631			
膜	ワセリン	65 (34.8%)	24 (22.6%)	0.024	48 (35.6%)	41 (25.9%)	0.066			
保	グリセリン	19 (10.2%)	16 (15.1%)	0.230	15 (11.1%)	20 (12.7%)	0.704			
護	リップクリーム	101 (54.0%)	40 (37.7%)	0.005 **	70 (51.9%)	71 (44.9%)	0.208			
剤	蜂蜜	7 (3.7%)	6 (5.7%)	0.462	7 (5.2%)	6 (3.8%)	0.554			

\*p&lt;0.05, \*\*p&lt;0.01, 太字: 50%以上の項目

いはほとんどないが、全体の件数としては少ないが、看護職によるコッヘル、摂子の使用が有意に多かった。

## 2) 口腔洗浄・消毒剤の使用について

歯磨き粉の使用が多いほか、イソジンガーグルの使用と義歯洗浄剤が7割程度であった。

## 3) 口腔粘膜保護材の使用について

全体的に、保湿および粘膜保護材の使用は少なく、介護老人保健施設で使用件数が多い傾向にあったが、有意差があったのはリップクリームのみであった。

## D. 考察

現状として、歯ブラシを使用している施設が多いことがわかった。歯ブラシ以外の物品ではガーゼが多く、個別の口腔内の状況に応じた歯垢除去がなされているか疑問が残った。また、イソジンガーグルの使用が想像以上に多く、口

腔内細菌叢や口腔乾燥への影響が懸念された。

また、口腔粘膜保護、口腔乾燥への対処として有効な物品を使用できている施設は多くなかった。口腔ケア物品は利用者の個人負担である施設が多く、患者や家族の意向に左右されること、関わる看護職や介護職のアドバイスにより内容が決まる。看護職がコッヘルや摂子を使用するのは、ケアの効率性を考えてのことであるとも考えられる。

## E. 結論

高齢者の口腔機能の向上を目指す口腔ケアを普及していくためには、ケア方法や物品の効果など確かなエビデンスを蓄積し、看護職及び介護職へ情報提供していくことが期待されている。

## 高齢入院患者における口腔乾燥度と摂食・嚥下能力との関係についての調査研究

研究協力者 岩佐 康行 特定医療法人原土井病院歯科

研究代表者 柿木 保明 九州歯科大学摂食機能リハビリテーション学分野

## 研究要旨

口腔乾燥は咀嚼や嚥下機能の低下、口腔内環境の悪化と関連が深いといわれ、高齢者では誤嚥性肺炎も問題とされる。そこで今回、当院入院患者の口腔乾燥度と摂食・嚥下能力との関係について調査を行った。

2006年4月から2009年1月までに摂食・嚥下訓練の依頼があった65歳以上の入院患者のうち、経口摂取のみを行っていた248名(65~100歳, 平均年齢83.1歳)を対象として、摂食・嚥下障害者における摂食状況のレベル(藤島ら)と口腔乾燥度(柿木の臨床診断基準)を調査した。これらを摂食・嚥下障害者における摂食状況のレベル7,8,9の3群に分けて口腔乾燥度を比較検討した。結果、摂食・嚥下障害者における摂食状況のレベル7は101名、レベル8は90名、レベル9は57名であった。レベル7はレベル8および9と比較して統計学的に有意に口腔乾燥度が高いことが示唆された。

口腔乾燥にはさまざまな要素が影響を及ぼすが、今回の調査では摂食・嚥下能力と関連が高い可能性が示唆された。当院ではレベル7は咀嚼を要しない丸飲みの食事形態のため、口腔周囲筋群の活動が不十分なために唾液分泌量が低下していた可能性が考えられた。一方、レベル8や9は比較的高い摂食・嚥下能力を必要とするために口腔周囲筋群の活動量が大きく、唾液分泌が促進されたものと考えられた。摂食・嚥下機能、特に口腔機能の維持が高齢者の口腔乾燥防止に有効な可能性が考えられ、今後さらなる研究を行う予定である。

## A. 研究の目的

口腔乾燥は咀嚼や嚥下機能の低下、口腔内環境の悪化と関連が深いといわれ、高齢者では誤嚥性肺炎との関連も問題とされている。

当院は要介護高齢者が多く入院し、摂食・嚥下障害や肺炎は大きな問題となっているが、こうした患者は口腔乾燥も重度なことが多い。そこで今回は、当院に入院している65歳以上の高齢者を対象に、口腔乾燥度と摂食・嚥下能力との関係について調査、検討を行った。

## B. 研究対象および方法

2006年4月から2009年1月までに歯科に摂

食・嚥下機能評価あるいは訓練の依頼があった65歳以上の高齢入院患者のうち、初診時に経口摂取のみを行っていた248名(65~100歳, 平均年齢83.1歳)を対象とした。

調査は全て初診時に筆者が行い、調査項目は「摂食・嚥下障害者における摂食状況のレベル(藤島ら)」と口腔乾燥度(柿木の臨床診断基準)とした。

調査した結果について、まず、対象者を75歳未満の前期高齢者群と75歳以上の後期高齢者群とに分けて、口腔乾燥度を比較検討した。次に全体をレベル7の群(嚥下食を摂取)、レベル8の群(特別に食べにくいものを除いて摂取)、レベ



ル9の群(食物の制限なし)に分けて口腔乾燥度を比較検討した。

統計解析法について、年齢別での検討においては Mann-Whitney's U test を用いた。摂食状況での検討においては Kruskal-Wallis rank test にて有意差の検討を行い、Post-hoc test として Scheffé 法を用いた。

## C. 研究結果

### 1) 前期高齢者群と後期高齢者での比較

対象者 248 名のうち、前期高齢者が 50 名、後期高齢者が 198 名であった。

口腔乾燥度は、前期高齢者群において 0 度(正常):1 度(軽度):2 度(中等度):3 度(重度) = 16 名:27 名:6 名:1 名、後期高齢者群においては 57 名:95 名:43 名:3 名であった。これら 2 群間に統計学的な有意差はなかった。

### 2) 摂食・嚥下障害者における摂食状況のレベルでの比較

レベル7の群は 101 名で、0 度:1 度:2 度:3 度 = 20 名:48 名:31 名:2 名であった。レベル8の群は 90 名で、0 度:1 度:2 度:3 度 = 29 名:45 名:15 名:1 名、そしてレベル9の群は 57 名で 0 度:1 度:2 度:3 度 = 24 名:29 名:3 名:1 名であった。これらについて統計学的に検索したところ、レベル7の群はレベル8および9の群と比較して有意に口腔乾燥度が高いことが示唆された。また、レベル8の群と9の群との間には有意差が認められなかった。

## D. 考察

### 1) 口腔乾燥度の評価について

口腔乾燥にはさまざまな因子が影響を与えるため、臨床で正確な口腔乾燥度を評価することは困難なことが多い。特に要介護高齢者では、唾液を採取したり、唾液湿度検査紙や口腔水分計を用いたりした検査は、認知症による拒否もあって困難であった。今回、口腔乾燥を評価するにあたって用いた柿木の臨床診断基準は、舌背部の唾液の状態を中心に評価するもので、自覚症状、唾液

湿度検査紙、口腔水分計などによる臨床的な症状とよく相関するとされ、要介護高齢者に対しても応用しやすいという特徴があった。そこで、本調査ではこの臨床診断基準を用いて、評価はすべて筆者が行った。このため、験者間による評価の違いは考慮する必要がないと考えられた。

口腔乾燥度の評価にあたっては、同一被験者においても日内変動、食事や飲水、そして口腔ケアなどの影響を受けるとされる。このため、評価を行うときの条件を整えておく必要がある。今回は臨床場面での評価であったため、午後の診療で評価を行った程度の条件設定であった。また、口腔乾燥には原疾患の影響や薬剤の副作用、ADL、発熱、水分摂取量などさまざまな要因も影響すると考えられるが、今回はこれらの要因についても検討していない。したがって、今回の調査研究で摂食・嚥下能力の影響について結論づけることはできないが、今後の研究の方向性を確かめるには十分なデータであると考えている。今後の調査研究ではより幅広く詳細な調査を行い、検討を行っていきたい。

### 2) 結果について

加齢による唾液分泌量減少については諸説あるが、安静時唾液は減少するが刺激唾液は減少しないという考えが、現在支持されているようである。今回の調査では初診時に口腔内を観察して口腔乾燥度の評価を行っているため、安静時の唾液分泌量が結果に影響を与えていると考えられた。このため、対象者を前期高齢者群と後期高齢者群とに分けて口腔乾燥度を比較したが、統計学的に有意差が得られなかった。そこで、前期、後期高齢者をまとめて摂食・嚥下のレベルで分類して以下の検討を行った。

その結果、摂食状況のレベル7の群はレベル8および9の群と比較して口腔乾燥度が高いことが示唆された。ここで、レベル7とは3食の嚥下食を経口摂取している者と定義されており、当院では主にミキサー食が提供されている。レベル8は、特別に食べにくいものを除いて3食を経口摂取している者と定義されており、当院では主に細キザ

ミ食が提供されている。ただし、普通食が提供されていても水分にトロミが必要な場合はレベル 8 となる。レベル 9 は食物の制限はなく 3 食を経口摂取している者と定義され、当院では普通食を提供されている。このような摂取している食事形態から考えると、ミキサー食は他の食事形態と比べて触覚や味覚、温度感覚などの感覚への刺激が少ないうえ、咀嚼を要さず丸飲みとなるために口腔周囲筋群の活動量も少なくなっていると考えられる。こうした感覚入力や筋活動の低下が刺激唾液の分泌に影響を与えている可能性が考えられた。しかし、摂食・嚥下機能、特に口腔機能の違いが安静時の唾液分泌に影響を与えるのかどうかについては不明な点が多く、今後の検討事項と考えられた。

その他に、安静時唾液分泌量に摂食・嚥下能力が影響を与える可能性として次のようなことが考えられる。すなわち、摂食・嚥下能力が低くなると、栄養摂取量や水分摂取量が不足して、低栄養、脱水状態になりやすい。脱水は安静時唾液分泌量に影響を与えるとされており、このことが影響を与えているのかもしれない。脱水を歯科受診時に評価することは難しく、今後の検討事項と考えられた。

以上、今後検討すべき点は多いが、今回の調査研究により、高齢者の摂食・嚥下機能、とくに口腔機能を維持することは唾液分泌を促し、口腔乾燥防止に有効な可能性が考えられた。

## E. 結論

軽度の摂食・嚥下障害を有する高齢入院患者に対して、摂食・嚥下障害者における摂食状況のレベルと口腔乾燥度について調査した結果、摂食状況のレベルが高いほど口腔乾燥度が低いことが示唆された。摂食・嚥下機能、特に口腔機能の維持が高齢者の口腔乾燥防止に有効な可能性が考えられ、今後さらなる研究を行う予定である。

分担研究者 西原 達次 九州歯科大学感染分子生物学分野  
 研究協力者 磯田 隆聡 北九州市立大学国際環境工学部  
 研究代表者 柿木 保明 九州歯科大学摂食機能リハビリテーション学分野

#### 研究要旨

これまで、生理活性物質の定量法として ELISA 法が用いられている。この方法は、定量性という点で優れていることから、臨床検査キットとしての特性を有している。しかし、この方法を臨床応用しようとするときに、採取したサンプル中の物質を検出するまでに様々な工程を必要とし、操作時間の長さや定量に必要なサンプル量の点で課題がある。このことは、外来診療が主体となる歯科におけるチェアサイドタイムを考えた時に、地域診療における検査法として適当であるとは言い難い。そこで、昨年度から、この問題を改善するため、北九州市立大学環境工学科とマイクロチップバイオセンサを共同開発し、臨床応用に向けて基礎的な研究を開始してきた。この装置はセンサチップ表面に特殊な感応膜を調製し、この感応膜上に免疫物質を固定することで、抗原抗体反応の量を電圧に変換し検出を行うもので、即時性・選択性・定量性が高い次元で実現できる可能性を持っており、さらに、信号の無線化を行い、携帯性の点でも優れている。さらに、マウス IgG の定量実験では、濃度に依存した電圧値を検出できた。今年度は、この装置をさらに改良し、唾液中の細菌や抗菌物質の検出に関して、いくつかの知見が得られた。

#### A. 研究の目的

口腔乾燥症を考えるうえで、唾液の分泌量の低下とともに、質的な変化も重要な要因になっていると考えられている。これまで、我々の研究グループは、唾液の性状について研究を進め、曳糸性測定器を開発した。この測定機器は、唾液の粘性と相関するという知見も得られ、調査研究に応用している。

一方、唾液中に含まれる成分を分析するには、大型の機器が必要であるとともに、多大な時間と経費がかかり、調査研究に適した簡便な機器は未だ開発されていない。

そこで、今回の研究事業における分担研究者として、唾液の成分解析を調査研究に耐えうる精度で、簡便かつ安価な測定機器の開発を目指した。

これまで歯周病研究が進み、現在、先端診療の一つとして、歯周再生治療が注目されている。しかし、その一方で、客観的に指標化された診断機器がない。そのような状況になかで、我々は、歯科診療室で使用可能な簡便かつ信頼性の高い歯周病診断キットの開発を進めてきた(図1)。

さらに、歯周病研究の進歩にともない、歯周病と全身疾患との関連が指摘され、調査研究、基礎・臨床研究の結果、両者の因果関係が明らかになり、今では歯周医学という学際領域の研究が行われている。

同じような視点に立って、今回の研究事業でも大きなテーマの一つとなっている高齢者について考えると、感染症ということでも、成人との間に大きな違いがある。例えば、誤嚥性肺炎をは



はじめとする各種感染症では、高齢者における死亡率が高くなっている。さらに、要介護高齢者の口腔ケアの重要性が指摘され、口腔内の総細菌数と誤嚥性肺炎との相関は実証されている。

そこで、我々の研究グループは、これまで開発を進めてきた歯周病診断キットを進化させ、高齢者の唾液の質的变化を把握し、さらに、そこに含まれる細菌数および細菌種を明確にすることを目指した。

## B. 研究対象および方法

本研究事業における調査研究の検体としては、唾液、歯肉溝滲出液が考えられるが、これらに含まれているサイトカインや細菌が対象となる。

今回の検査機器は、図2に示す要素技術に基づいて開発してきた。前年度の研究事業では、今後、幅広く体液中の成分を測定するという考え、検体として免疫グロブリンを用い、検出系に抗免疫グロブリン抗体を用いて開発を進め、定量的な測定が可能か否かの検証を終了した。さらに、その後、検査機器の改良を進め、数種類のサイトカインの定量を試みた。

## C. 研究結果

### 1) チップのデザイン

今回、図3に示す測定チップを用いた。さらに、現在、サンプル処理時間を含めて1時間程度で計測ができるところまで改良が進んだ。電気化学反応を数値化するシステムの開発は終了したが、現在、操作性の簡便化に取り組んでいるところである。

### 2) 測定結果

今回、検体として免疫グロブリン、検出系に抗免疫グロブリン抗体を用いて測定したところ、図4に示すように、試験試薬として用いた抗免疫グロブリン抗体の濃度を変化させると、濃度依存的な反応が認められた。この結果は、通常、抗原抗体反応を検出する実験系であるウエスタンブロット法で確認しうることができた(図5)。

さらに、炎症性サイトカインであるインターロ

イキン-1 (interleukin-1; IL-1) および腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor; TNF) の検出も可能であることが明らかとなった(図6)。

## D. 考察

今回、現在、我々の研究グループで開発している検出機器は、これまで説明してきたように、抗原抗体反応を電気反応に変え、数値化することを特徴としている。

これまで、抗原抗体反応を数値化するシステムとしては、ELISA法が用いられ、体液中のさまざまな成分の測定が行われてきた。我々が開発したキットは、基本的には抗原抗体反応を検出系に用いているので、この点に関してはELISA法と同じである。したがって、本キットでは、混合物中から特定物質を検出する際に電気化学センサを用いているが、ELISA法と同じく特異的に検出する機能は有している。そのことは、今回、抗原抗体反応を検出するウエスタンブロット法でも確認した。

一方で、今回、我々は、体液中で微量で生理学的活性を発現するサイトカインを用いて、検出キットの有効性を確認したところ、濃度依存的な反応が見られ、定量的に測定するキットとしての有効性が示された。

今後、これらの利点を活かして、歯科診療室や調査研究で応用可能な検出機器にまで開発を進めていく予定である。

## E. 結論

今年度、血液中の抗体だけでなく、サイトカインを特異的かつ定量的に測定可能であるという結果が得られた。このことで、歯肉溝滲出液および唾液中のサイトカインおよび細菌を対象としたサンプルでも使用可能であることが強く示唆された。

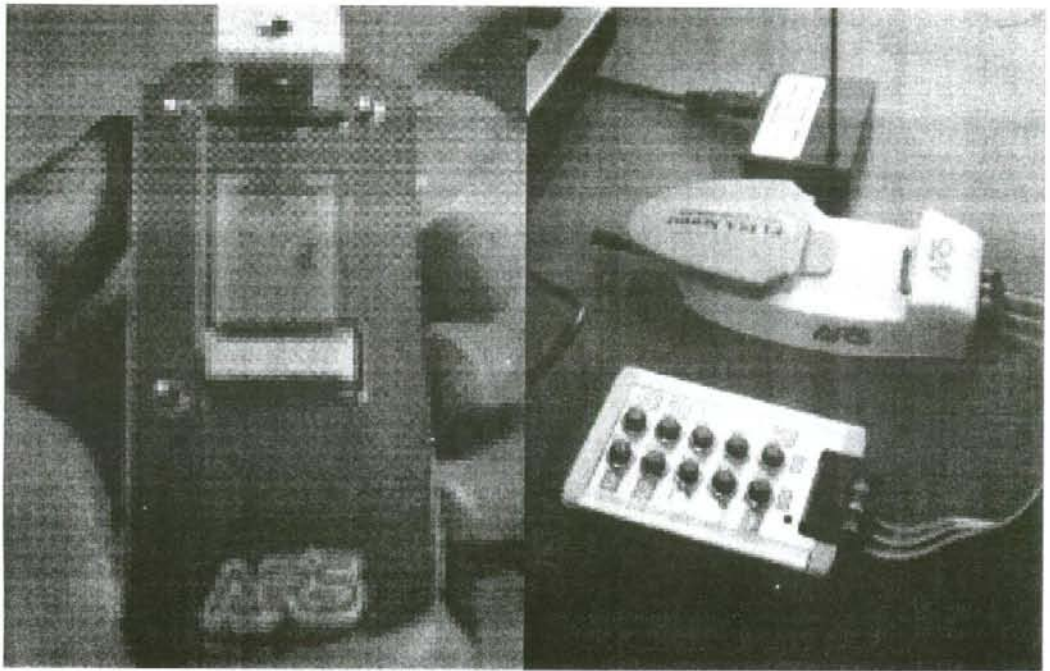


図1 測定キット 左：2006年モデル 右：2008モデル

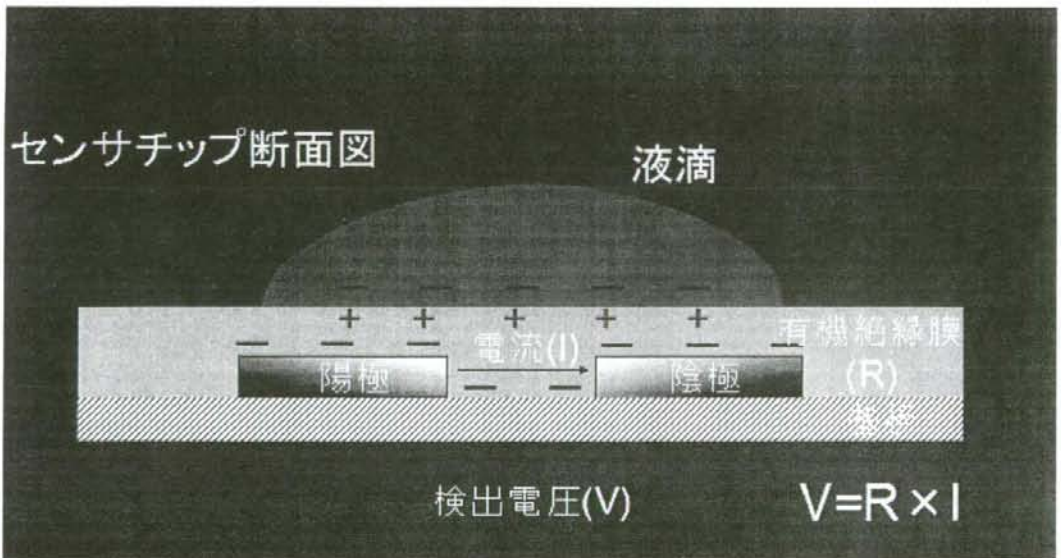


図2 技術要素



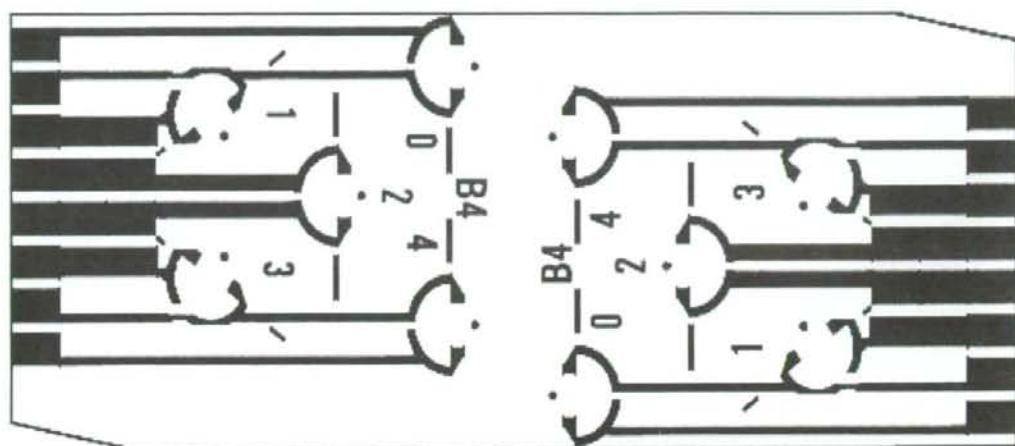


図3 測定チップデザイン

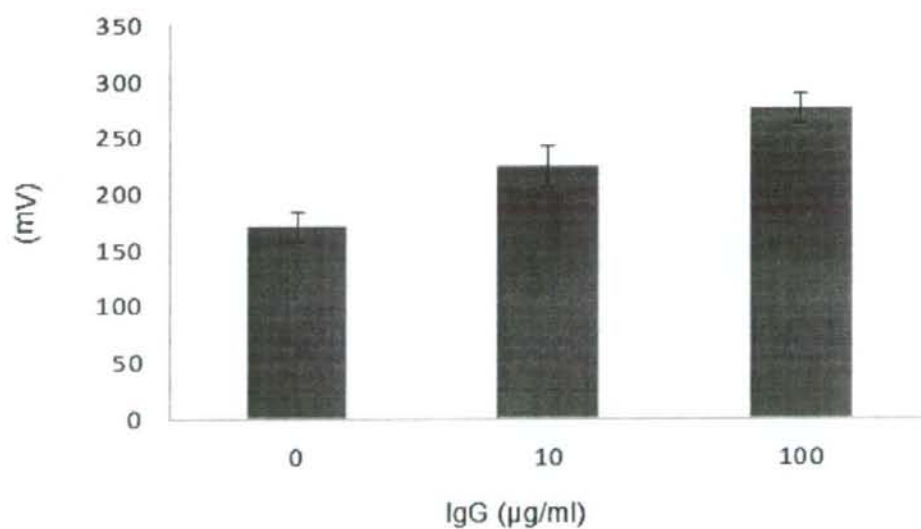


図4 免疫グロブリンに対する検出電圧

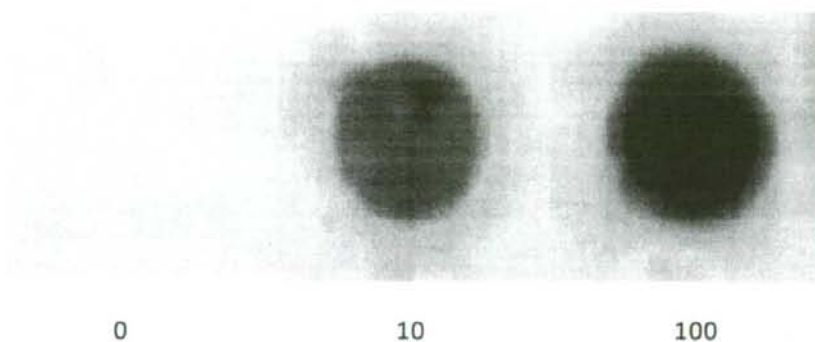


図4 ウェスタンブロット法での検出

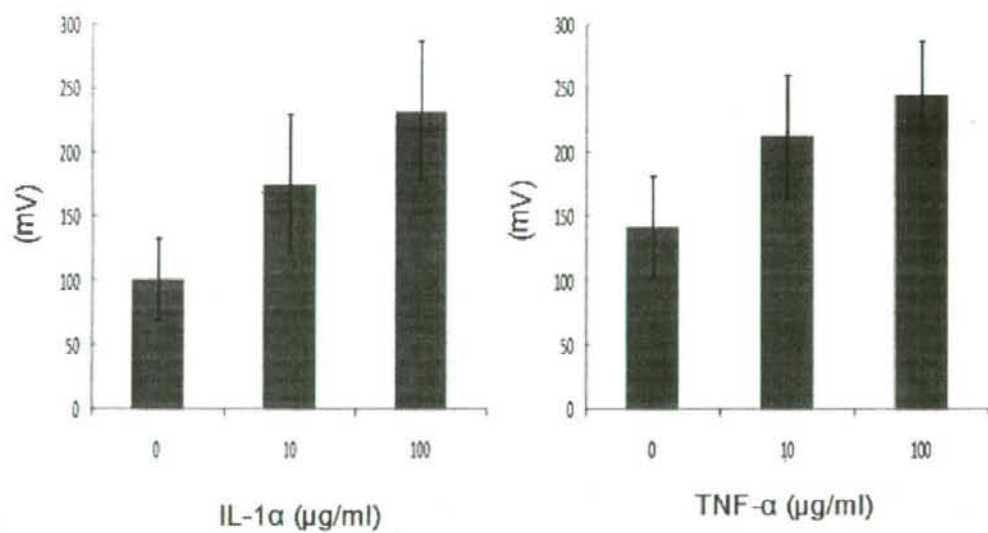


図6 サイトカインの検出 左：IL-1 右：TNF-α

## 歯周病細菌の血栓形成能の測定法の開発

分担研究者 西原 達次 九州歯科大学感染分子生物学分野  
 研究協力者 磯田 隆聡 北九州市立大学国際環境工学部  
 研究代表者 柿木 保明 九州歯科大学摂食機能リハビリテーション学分野

## 研究要旨

歯周病と心筋梗塞の因果関係を示す調査研究が数多く報告されている。臨床的に心筋梗塞患者の剖検例で梗塞化した部位から歯周病細菌が検出され、梗塞形成における歯周病細菌の関与が指摘されている。そこで、我々は、昨年度の研究事業で、微小流路を形成したチップを作製し、梗塞形成のメカニズム解明に有効か否かを検証した。微小流路の再現性を高めるために、突起部を配置したマイクロチップをアクリル樹脂基板で作製し、流路壁はSi ゴム系樹脂でコーティング処理をした。さらに、突起部 100 ヶ所を撮影し、画像解析で付着した細胞量を測定した。その検出キットを用いて歯周病細菌の梗塞巣形成におよぼす影響を調べ、歯周病細菌由来のLPSで活性化した細胞の付着性が亢進することを報告した。そこで、今年度、細胞付着亢進のメカニズムを分子生物学的に解析したところ、細胞表層に発現された接着因子が細胞の付着に深く関与していることが明らかとなった。今後、この検出キットを用いて、ヒトの単球系細胞の付着の動態を解析し、梗塞化のメカニズムを解明していく予定である。

## A. 研究の目的

現在、歯周病と全身疾患との関連が指摘されているが、なかでも、歯周病細菌と虚血性心疾患との関連については、多くに事実が明らかになってきた。歯周病細菌が産生するプロテアーゼやリポ多糖 (LPS) が冠状動脈の梗塞化を助長することが報告されている。さらに、心筋梗塞を発症した患者の梗塞化した病巣から歯周病細菌が検出され、両者の因果関係を支持する臨床結果が得られている。これまでに、細胞生物学的研究が進み、泡沫化細胞を増加させて梗塞を促進していることが明らかになってきた (図1)。

とくに、急性心筋梗塞を発症した患者の病巣から歯周病細菌が検出されるという臨床例が複数の施設から報告されている。確かに、主たる歯周病原細菌は、グラム陰性嫌気性菌で、その菌体表層成分であるリポ多糖 (lipopolysaccharide; LPS) がマクロファージを活性化し、LDL などの血

中コレステロールとともに血栓形成を促進することは広く知られている。しかし、臨床的に、梗塞巣で歯周病細菌が検出されるという現象が、歯周病細菌感染によって特異的に引き起こされるのか、すでに形成された病巣に細菌が付着したもののなかについても明確にされていない。このような視点で、歯周病細菌と心筋梗塞を分子レベルで解析されておらず、さらに、歯周病細菌が梗塞巣を形成するメカニズムを検証する実験系の開発は進んでいない。

そこで、本研究では、微小流路を作成し、*in vitro* で細胞の付着を観察するシステムを開発し、単球・マクロファージ系細胞の付着状態を指標とした梗塞リスクを評価するシステムの開発を目指した。

さらに、成人同様に高齢者においても歯周病の罹患率は高く、今回の検査技術が開発されることで得られるものは大きい。



## B. 研究対象および方法

### (1) 微小流路を形成したチップ

昨年の研究事業で、作成する微小流路のデザインの決定するためにマイクロチップを試作し、マイクロチップにシリコンゴムをコートして微小流路を作成した。今年度は、流路中に設置するマイクロピラー（障害物）の配置位置を検証し、最適化を測った（図2）。

### (2) 観察方法

図3で示すように、微小流路を形成したチップを顕微鏡下で観察するシステムを構築した。この流路に流れる細胞をリアルタイムで観察し、マイクロピラー（障害物）周辺に付着・集積する細胞を計測の対象とした。

### (3) 計測方法

昨年と同様に、一定の領域（250x500 マイクロメートル）で形成された梗塞化部位（Sc）の面積を計測した（図4）。

## C. 研究結果

昨年度の実験で、LPSで刺激したマクロファージのマイクロピラーに付着率が亢進することを見出したが、今年度、この現象が複数のマクロファージ細胞株で同様の減少が見られることを確認することができた（図5）。

さらに、マイクロピラーにマクロファージが付着し、さらに重積していく過程で、細胞表層に細胞接着因子のうち、ICAM-1が強発現されていることが明らかとなった（図6）。

## D. 考察

歯周病と心筋梗塞は典型的な生活習慣病であり、その発症の背景となる梗塞巣形成には、血液中のコレステロール、なかでもLDLと酸化LDLが重要な因子として作用する。それを十分に理解した上で、我々の研究グループは、歯周病細菌の病態形成におよぼす影響を調べてきた。

歯周病が進行すると、歯周病細菌が破壊された内縁上皮の間隙から歯周組織に侵入し、一過性の菌血症が誘発される。この知見をもとに、我々は、血栓形成モデルを開発し、血中のマクロファージが微小血管内で梗塞化する現象を *in vitro* で再現するシステムを構築を試み、今年度の実験で、定量化可能な検証システムであることを確認した。

さらに、次年度の研究事業で、歯周病患者血清中のLDLを観察系に付加して血栓形成リスク、および心筋梗塞リスクとの因果関連を明らかにすることを目指す。

一方で、我々は、マクロファージの貪食能と泡沫化を亢進させるメカニズムを明らかにしている。今後、微小流路の実験系をマクロファージの貪食能と泡沫化に応用していく予定である。

## E. 結論

今回の研究で開発した微小流路を用いて、歯周病細菌由来のLPSで刺激したマクロファージは付着能を亢進し、血管内で梗塞化を起こす可能性が示された。さらに、マクロファージ表層に発現されたICAM-1が付着量の亢進に深く関与していることが示唆された。

図 1



図 2

### 微小流路チップの概観

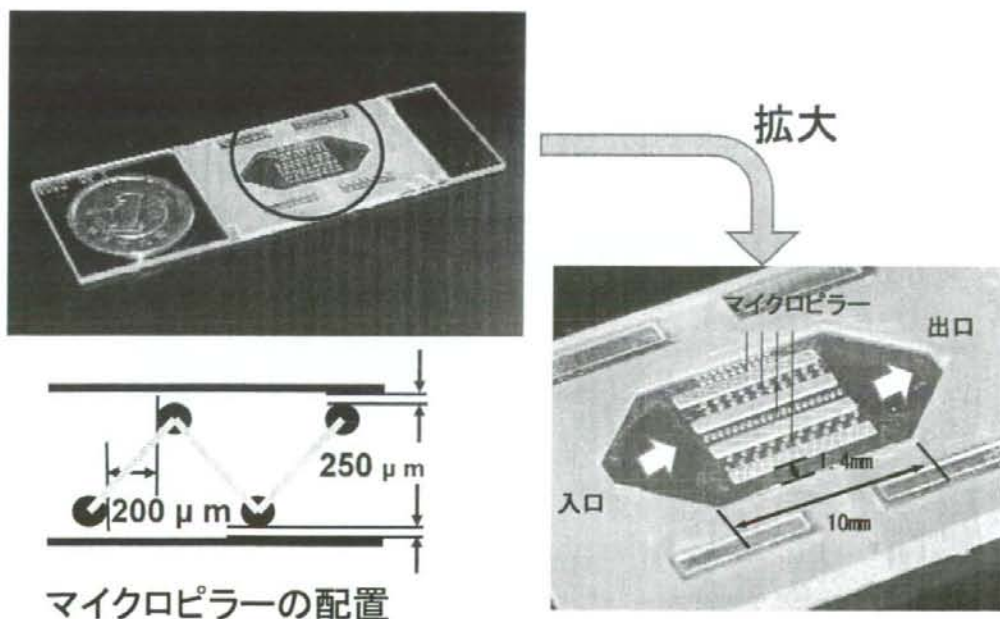


図 3

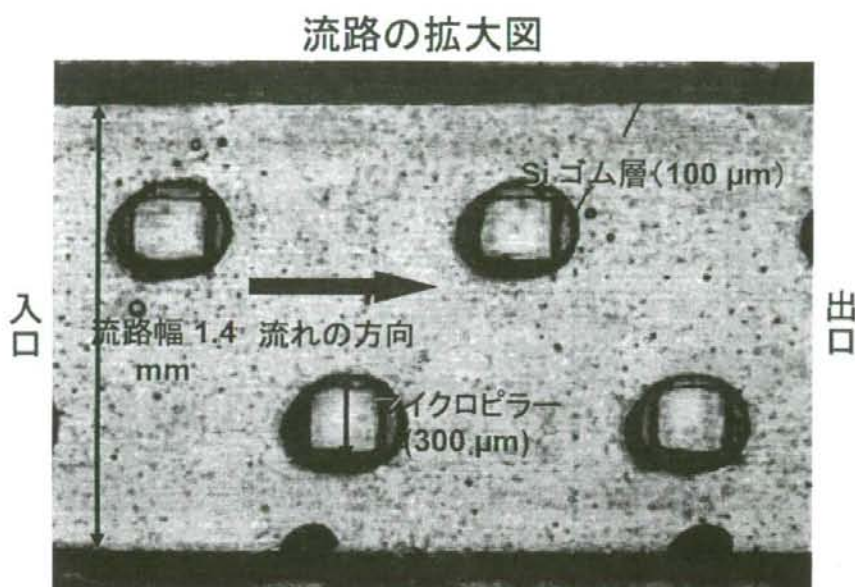
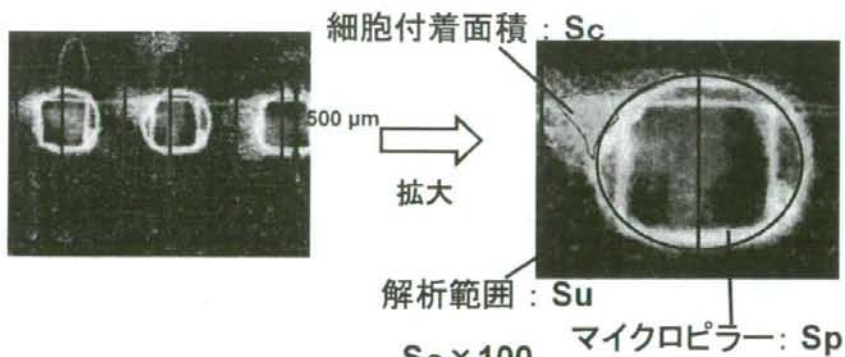


図 4

### 細胞付着率の解析方法

解析エリアの指定

細胞付着面積 (白影部分)



$$\text{細胞付着率 (\%)} = \frac{S_c \times 100}{S_u - 0.5 \times S_p} \quad (8.97 \times 10^4 \mu\text{m}^2)$$



図 5

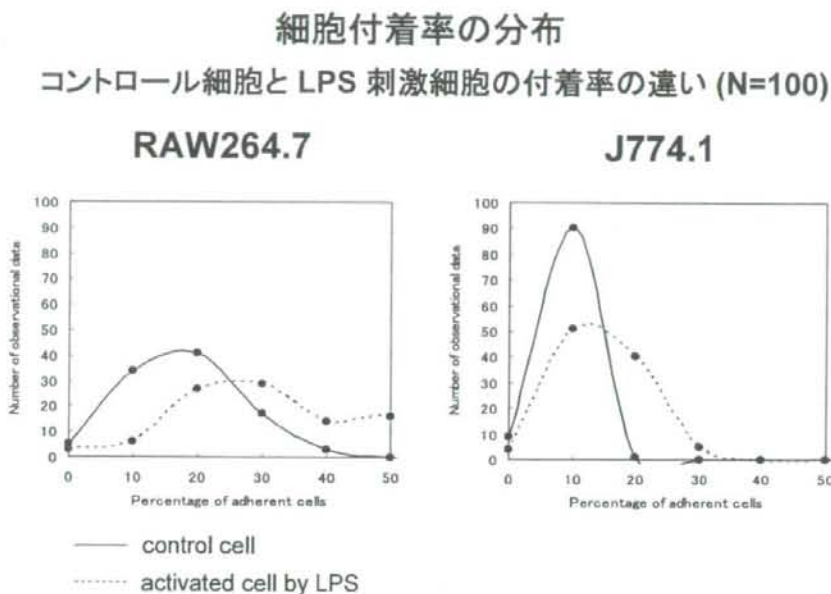
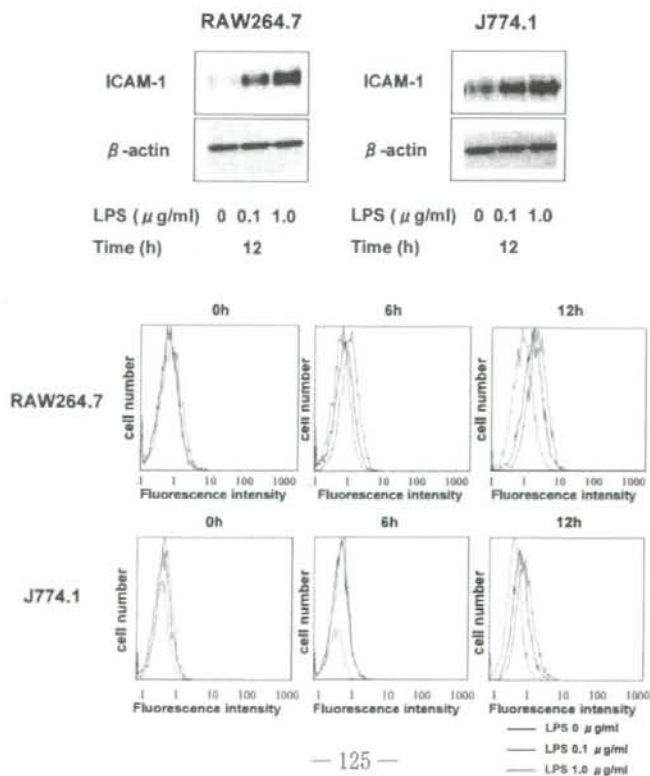


図 6

### LPS刺激によるRAW264.7、J774.1でのICAM-1発現



研究分担者 小関 健由 東北大学大学院歯学研究科

口腔保健発育学講座予防歯科学分野

研究代表者 柿木 保明 九州歯科大学摂食機能リハビリテーション学分野

#### 研究要旨

刺激唾液の採取法を歯科健康診査時に応用する場合は、無味ガムを噛ませる事による被検者のストレスなどの諸問題を解決する必要がある。よって一般健康診査時に大量の検体を採取する改良刺激唾液採取法を開発した。この方法は、キシリトール 100%ガムにて刺激唾液を回収する方法で、回収した刺激唾液の保存性と、刺激唾液を利用した臨床検査として活用が多い歯周疾患の唾液検査項目に影響が無いことを確認している。この改良刺激唾液採取法を用いて、健康男女名の計 20 名を対象に、現行の無味ガムを用いた刺激唾液分泌量測定法と改良刺激唾液分泌量測定法による分泌量を比較した所、無味ガムと比較して全員が取り組みやすいとの評価であった。無味ガムとキシリトール 100%ガムを使用した際の刺激唾液流出量の比の平均値が  $1.65 \pm 0.53$  となった。よって、刺激唾液流出量の判断では、「極めて少ない」を  $1.16 \text{ ml/min}$  以下の場合、「少ない」を  $1.16 \sim 1.65 \text{ ml/min}$  の場合、「正常」を  $1.65 \sim 4.45 \text{ ml/min}$  の場合とした。これによって、一般健康診査時での刺激唾液流出量検査の実施が受け入れやすくなり、臨床応用の幅が広がった。

#### A. 研究の目的

口腔の健康を考える上で、唾液は口腔内を潤らし口腔環境を規定する最も基本的な構成要素である。この唾液は、食事時以外の口腔内を湿潤し口腔内器官を潤滑させて機能を滞りなく発揮させる安瀟時唾液と、食事時に分泌され食塊を形成させて円滑な嚥下を導く刺激唾液に分けられる。これまで我々は安瀟時唾液の口腔内環境との関連を中心に検索してきたが、安瀟時唾液と刺激唾液は同じく口腔内を潤して口腔環境を規定するので、両者を相互に比較して口腔機能に果たす役割の配分を見据えた研究が必要となる。よって、これまで蓄積してきた安瀟時唾液の生体機能的性状に関して刺激唾液でも検証し、全身と口腔の健康維持・増進における唾液の総合的役割に関して検討する。

刺激唾液の採取法に関しては、無味ガムを噛ん

だときの刺激唾液を採取するが、一般の方を対象としたときの臨床検査として刺激唾液を採取する場合には、無味ガムの入手が困難であることとや採取したときの唾液性状観察に適した容器についての工夫、さらに無味ガムを噛ませる事による被検者のストレスなどの諸問題を解決する必要がある。これは、本研究の先行事業として安瀟時唾液採取について開発した改良ワッテ法と対を為す、一般健康診査時に大量の検体を採取する刺激唾液採取法として位置付けるものである。

#### B. 研究対象および方法

##### 1) 改良刺激唾液採取法の開発

現時点での無味ガムを使用した刺激唾液分泌量の測定では、無味ガムを噛ませる事による被検者のストレスと無味ガムの入手方法に問題があった。そこで、回収した刺激唾液の保存性と、刺

激唾液を利用した臨床検査として活用が多い歯周疾患の唾液検査項目に影響が無いことを指標に、種々のガムを検討した。その結果、入手の簡便性と刺激唾液の採取後に酸性化が起きないといった点、さらに一般臨床検査で実施されているヘモグロビン (Hb) 含有量及び乳酸脱水素酵素 (LDH) 含有量測定に影響を与えないといった理由で、キシリトール 100%ガム (XYLITOL シュガーレス・アップルミント、オーラルケア社製) を選択し、実験に供した。さらに、唾液採取容器として、吐唾が容易であること、採取した唾液性状観察が容易である半透明の容器であること、内容量を読み取る詳細な目盛の印刷から、50mL のディスプレイの遠心管 (91050、TPP 社製) を選択した。以上より、より被検者に受け入れやすい改良刺激唾液分泌量測定法を開発した。

## 2) 改良刺激唾液採取法による流出量判定基準の設定

実験の説明を行い、同意を得た健康な 20 代男性 7 名、女性 7 名、30・40 代の健康男女名の計 20 名を対象に、現行の無味ガムを用いた刺激唾液分泌量測定法と改良刺激唾液分泌量測定法による分泌量を比較した。昼食後 1 時間以上経過した安静な状態で無味ガムを 3 分噛んだ場合 (①)、10 分後にキシリトール 100%ガムを噛んだ場合 (②)、さらに 1 時間後にキシリトール 100%ガムを噛んだ場合 (③)、10 分後に無味ガムを 3 分噛んだ場合 (④) のそれぞれの刺激唾液分泌量を比較した。

## C. 研究結果

改良刺激唾液採取法に関しては、無味ガムと比較して全員が取り組みやすいとの評価であった。また、唾液採取用の容器に関しても使用に問題が見られなかった。

無味ガムとキシリトール 100%ガムを使用した際の刺激唾液流出量の相関を検証した (図 1)。

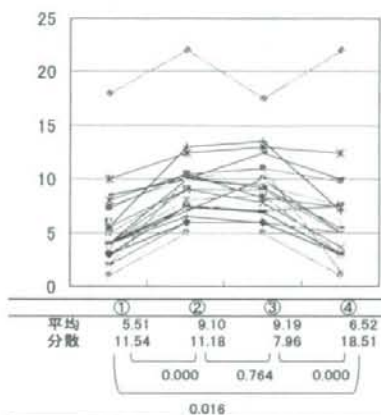


図 1 唾液分泌量と各測定値間の関連

各被験者のキシリトールガム/無味ガムの比率を②/①、③/④の値として計算すると、比が 5 以上の 2 名分の値をはずれ値として除くと、平均値が  $1.65 \pm 0.53$  となった (図 2)。

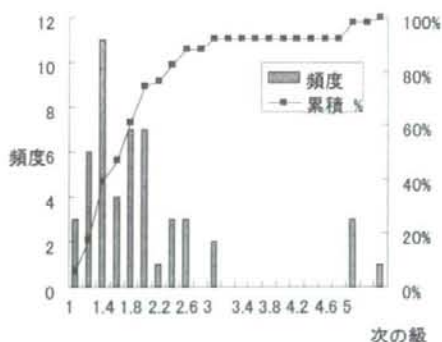


図 2

キシリトールガム/無味ガムの比率の度数分布

## D. 考察

今回実験に参加した被験者は口腔内に大きな問題が無い健常者であるので、キシリトール 100%ガムと無味ガムの刺激唾液分泌量の比が、同様に刺激唾液分泌量が低下した口腔乾燥症の



患者の刺激唾液分泌比と同様と考えるには、更なる実験が必要となるが、一般の歯科健診時に刺激唾液分泌用が低下した対象者を選び出すスクリーニングを行う際には、この分泌量の比 1.65 を外挿して、刺激唾液分泌量の域値の目安に使用できると考えられる。すなわち、無味ガムを噛んだときの刺激唾液分泌量の目安として、Ericsson and Hardwick の示した基準では、「極めて少ない」を 0.7ml/min 以下の場合、「少ない」を 0.7～1.0ml/min の場合、「正常」を 1.0～3.0ml/min の場合としているが、これをキシリトール 100% ガムを用いた刺激唾液流出量の判断では、「極めて少ない」を 1.16ml/min 以下の場合、「少ない」を 1.16～1.65ml/min の場合、「正常」を 1.65～4.45ml/min の場合と読み替えることとなる(表 1)。

また、採取した刺激唾液のキシリトールの濃度を測定すると、キシリトール 100% ガムから溶け出したキシリトール総量が求まることになり、ガムを用いた咀嚼効率の測定法にも応用が可能である。これらの可能性を考えると、刺激唾液を用いた臨床検査の幅が広がることになり、一度の刺激唾液の検体採取で多くの口腔内現症が把握できる事となる。一方で、住民一般健康診査にキシリトール 100% ガムを使った唾液検査を組み込む

場合は、歯周疾患検診で主に調べられる LDH や Hb の測定値に影響が現れないものの、同時に実施される臨床検査の血糖値などの生化学検査項目に影響がないことを確認する必要がある。

以上より、改良刺激唾液採取法は、これからの刺激唾液分泌量測定の実施に際して問題の無い方法であり、一般の口腔内歯科健康診査時に活用が大きいと考えられる。

#### E. 結論

刺激唾液を採取する場合に起こる無味ガムを噛ませる事による被検者のストレスなどの諸問題を解決するために、一般健康診査時に大量の検体を採取する刺激唾液採取法として改良刺激唾液採取法を開発した。この方法は、キシリトール 100% ガムを用いた方法であり、種々の臨床検査の読み取り値に影響を与えない。さらに、新しい刺激唾液流出量の判定の基準を設定した。これによって、一般健康診査時での刺激唾液流出量検査の実施が受け容れやすくなり、臨床応用の幅が広がった。

分泌量(mL/min)	極めて少ない	少ない	正常
無味ガム	< 0.7	0.7 ~ 1.0	1.0 ~ 3.0 (平均:1.5)
キシリトールガム	< 1.16	1.16 ~ 1.65	1.65 ~ 4.96 (平均:2.48)

表 1 改良刺激唾液採取法による流出量判定

## 刺激唾液流出量と口腔と全身の健康と現症との関連

研究分担者 小関 健由 東北大学大学院歯学研究科

口腔保健発育学講座予防歯科学分野

研究代表者 柿木 保明 九州歯科大学摂食機能リハビリテーション学分野

## 研究要旨

口腔内環境を理解し、口腔内疾病のリスク管理を行う上で、刺激唾液の把握は必須であると考えられる。よって、キシリトール 100%ガムを用いた改良刺激唾液採取法を用いて、住民歯科健診の受診者 167 名を対象に口腔内現症と刺激唾液分泌量の関連について検討した。口腔内所見と刺激唾液分泌量の関連は、年齢、性別、DMFT、処置歯数、LDH 濃度と有意な負の単相関係、現在歯数、健全歯数、身長と有意な正の単相関係、さらに女性で有意に分泌量が少ないことが示された。刺激唾液分泌量を従属変数として、ステップワイズ法の独立変数とし年齢層、性別、健全歯数、身長を投入して線型回帰を試みたところ、性別と健全歯数が刺激唾液分泌量に関連する因子として選択された。口腔内現症と刺激唾液分泌量の関連は、どちらがどちらに影響を及ぼすといった一方向の関連ではなく、相互に口腔内環境に影響し合う密接な関係と考えられる。より唾液の関与する口腔内環境に規定される DMFT や健康歯数、現在歯数が刺激唾液分泌量と密接に関与することが示された。これらの研究結果から、刺激唾液分泌量が口腔内健康、特にう蝕予防に大きく関連することが示された。

## A. 研究の目的

口腔内環境を把握し、口腔内疾病のリスク管理を行う上で、口腔内を潤して満たす唾液の物理的・生化学的性状の検索は必須であると考えられる。前年度の研究事業では、安静時唾液を改良ワッテ法を用いて口腔内環境との関連を検索したが、採取が容易である刺激唾液による口腔内環境との関連については、詳細な検討を行っていなかった。本研究では、現行の刺激唾液採取法を改良して開発した、キシリトール 100%ガムを用いた改良刺激唾液採取法を用いて、住民歯科健診の受診者を対象に口腔内現症と刺激唾液分泌量の関連について検討した。

## B. 研究対象および方法

宮城県の農業地帯に位置する小規模な市で、住

民一般健康診査の会場に併設して、40, 50, 60, 70 歳の節目者を対象とした歯周疾患健診を実施した。この歯周疾患健診の受診者で、実験の説明を行い同意書を頂いた方を対象に、キシリトール 100%ガムを用いた改良刺激唾液採取法を用いて刺激唾液分泌量を計量した。同時に歯周疾患健診の結果と合わせて、現在の刺激唾液分泌量と口腔内現症との関連を検索し、採取した刺激唾液に関しては、ヘモグロビン (Hb) 含有量及び乳酸脱水素酵素 (LDH) 含有量を測定した。検索には SPSS (Ver.17, SPSS 社) を用いた。

## C. 研究結果

口腔内診査と刺激唾液分泌量測定を実施した住民歯科健診参加者は 167 名であった (表 1)。さらに、各年代の歯周疾患罹患状況を表 2 に示す。

口腔内所見と刺激唾液分泌量の関連を検索したところ、年齢、性別、DMFT、処置歯数、LDH濃度と有意な負の単相関係、現在歯数、健全歯数、身長と有意な正の単相関係、さらに女性で有意に分泌量が少ないことが示された(表3、図1)。一方で、最大CPI値、CPIが3以上の部位数、舌苔の付着量、口臭測定値とは相関が見られなかった。

刺激唾液分泌量を従属変数として、強制投入の独立変数として単相関係で見られた年齢層、性別を、ステップワイズ法の独立変数とし健全歯数と身長を投入して線型回帰を試みたところ、刺激唾液分泌量に関連がある因子として、年齢層、性別、健全歯数が独立して有意に関与することが示された(表4)。健全歯数を同様に現在歯数やDMFTに変更しても、これらの歯の数の状態と年齢層、性別が独立して有意に関与することが示された。

さらに、刺激唾液分泌量を従属変数として、ステップワイズ法の独立変数とし年齢層、性別、健全歯数、身長を投入して線型回帰を試みたところ、性別と健全歯数が刺激唾液分泌量に関連する因子として選択された。

#### D. 考察

刺激唾液分泌量に関わる因子は、第一に体格が大きく関わりと予想されたが、単相関係では体重やBMIが関わらず、身長と性別が関連することが示された。しかしながら、線型回帰分析では、性別の項目しか強い関連が示されなかったことから、刺激唾液分泌量に関わる因子は、体格が大きく関与するのではないことが考えられた。

口腔内現症と刺激唾液分泌量の関連は、どちらがどちらに影響を及ぼすといった一方向の関連ではなく、相互に口腔内環境に影響し合う密接な関係と考えられる。本研究では、歯周疾患の程度を示すCPI最大値やCPI3以上の部位数などの因子は刺激唾液分泌量と関連が示されなかった。本

研究の対象者は、歯の喪失が著しくなる65歳以上の高齢者は全体の3割含むので、歯周疾患の関連が認められなかったことは、刺激唾液の歯周疾患予防に関する機能が弱いかもしれない。

一方で、より唾液の関与する口腔内環境に規定されるDMFTや健康歯数、現在歯数が刺激唾液分泌量と密接に関与することが示された。これは、う蝕の発生予防と進行の抑制に刺激唾液が大きく関与するこれまでの基礎的な研究や臨床研究結果と合致する。すなわち、刺激唾液は、口腔内に入った食物や糖質を、希釈して洗い流し、歯垢内で産生された酸を緩衝作用で中和し、さらに唾液中のカルシウムが脱灰した歯面を再石灰化するといった多機能な役割を持ち、これがう蝕予防に結び付くと云ったものである。

これらの研究結果から、刺激唾液分泌量が口腔内健康、特にう蝕予防に大きく関連することが示された。しかしながら、対象者数が少ないことや横断調査であることから、刺激唾液の口腔疾患予防の効果を示すためには、更なる調査研究を進めなければならない。

#### E. 結論

キシリトール100%ガムを用いた改良刺激唾液採取法を用いて、住民歯科健診の受診者167名を対象に口腔内現症と刺激唾液分泌量の関連について検討した。口腔内所見と刺激唾液分泌量の関連を検索したところ、年齢、性別、DMFT、処置歯数、LDH濃度と有意な負の単相関係、現在歯数、健全歯数、身長と有意な正の単相関係、さらに女性で有意に分泌量が少ないことが示された。刺激唾液分泌量を従属変数として、線型回帰を試みたところ、年齢層、性別、健全歯数が有意に関与することが示された。このことは、う蝕予防を中心とする刺激唾液の役割を示すことになり、刺激唾液が口腔内健康、特にう蝕予防に大きく関連する可能性が示された。