

厚生労働科学研究費補助金（地域医療基盤開発推進研究事業）
「系統的レビューに基づく「歯科口腔保健の推進に関する基本的事項」に寄与する
口腔機能評価法と歯科保健指導法の検証」
平成29年度 分担研究報告書

唾液中のヘモグロビンを用いた歯周病のスクリーニング

研究分担者 玉置 洋 国立保健医療科学院 医療福祉サービス研究部
上席主任研究官
研究協力者 野村 義明 鶴見大学 歯学部 探索歯学講座 准教授
研究協力者 岡田 彩 鶴見大学 歯学部 保存修復学講座 助教
研究代表者 三浦 宏子 国立保健医療科学院 国際協力研究部 部長

研究要旨

歯周病は一般的な炎症性疾患であり、成人の約8割において蔓延する生活習慣病であり、歯を喪失させる主な原因の一つである。予防には早期の発見及び治療が重要であり、そのためには集団を対象にしたスクリーニングテストの導入が必要である。唾液中のヘモグロビン(Hb)量の測定は、歯肉の炎症を評価するために有効な方法であることが過去の研究から明らかになっている。この系統的レビューの目的は、Hbを用いた歯周病のスクリーニングテストの疫学的な検証を行い要約することである。

本研究ではPubMedデータベースを用いて、過去に発表された文献探索を行なった。合計55の記事が検索されたが、歯周病の一般的な診査基準に対する感度および特異性が記載されている論文に絞ってレビューを行った結果、14の研究でHbの感度および特異性が計算されており、レビューの対象となった。そのうち6つの論文が実験室における唾液中の測定法を用いており、うち3つの研究がポリクロナール抗体反応を使用した測定法、残りの3つの研究が比色試験を用いた研究であった。また8つの研究が反応試験紙を使用した方法であり、うち4つの研究がモノクロナール抗体反応を使用した方法、残りの4つの研究が比色試験を用いた研究であった。Youden's Indexを用いて比較した結果、抗体反応を用いた方法のindex値の範囲は0.08-0.52であり、比色試験を用いた方法0-0.08よりも優れていた。

今後は性別、年齢、残存歯数によって階層されたカットオフ値を用いたさらなる研究が必要とされる。

A. 研究目的

歯周病は広範囲な炎症を伴い歯の支持組織に影響を及ぼし、結果的に歯の喪失の主な原因となる疾患であり、成人の約8割に蔓延し、全身性疾患にも影響を及ぼすことが知られている。また先進国および開発途上国の両方で一般的な疾患とされ、世界中の人口の約20-50%が罹患しているとされているおり、歯周病は青年期、成人および高齢者すべてにおいて罹患する疾患であるため、公衆衛生的なアプローチが必要とされる¹⁾。

予防にはポピュレーションアプローチ（集団的な対策）とリスクの高い個人を直接対

策する方法のハイリスクアプローチの両方が必要とされる。特に疾病リスクの高い個人を対象にするハイリスクアプローチにおいては集団に対してスクリーニング検査を実施し、疾病リスクの高い者を特定する必要がある。

日本では、健康診断は各ライフステージで確立されており、妊産婦、1歳六ヶ月時、三歳児、学校保健として小学生、高校生までの健康診査に歯科検診が義務づけられている。その後、40歳、50歳、60歳の節目において地方自治体において住民の歯科検診は実施されている。

また企業では労働者を対象に年に1回の成人病予防を目的とした健康診断が行われているが、これらの企業の健康診査において歯科検診は含まれていないことが多い。歯周病の症状は成人期以降に現れることが多いが、このライフステージにおける歯科検診は残念ながら限られているのが現状である。

その原因のひとつは歯周病検診にかかる費用である。また従来 of 歯科検診には歯科専門職の存在が必需であり、また1回に検査できる人数も限られている。そのため低コストで大きな集団を対象にした歯肉炎・歯周病の状態を評価出来る信頼性のある方法の確立が急務とされている。

また歯周病は自覚症状があっても患者が自ら歯科医院を訪れる人は多くないことが知られており、患者が「治療は必要ない」と自己診断していることが、定期的な歯科の受診を妨げている共通の原因とされている²⁾。それゆえに歯周病のスクリーニングテストの結果は定期的な歯科受診の動機付けになる可能性がある。

歯科検診の代替として唾液中のヘモグロビン(Hb)レベルの測定は歯科専門家を必要しない低コストの手法として、歯肉の状態を知るための方法のひとつである。歯肉の状態を評価するバイオマーカーはいくつか存在するが、実際に唾液検査に用いるためには、薬事法に基づいた体外診断用医薬品の薬事規制を通過していることが必要とされる。現在、我が国において歯周病の評価のために用いる体外診断用医薬品として薬事規制を通過した検査キットは唾液中のヘモグロビンレベルを測定する商品のみである。

そこで本研究は、歯周病のスクリーニングとして唾液中のヘモグロビンレベルについて過去に発表された文献についてレビューし、その有効性について疫学的な検証を行った。

B. 研究方法

1) 文献の検索方法

文献は電子データベースであるPubMedを用いて検索した。まずアブストラクトをレビューし、さらに全文をレビューして内容を整理した。また探索された文献の参考文献一覧も精査し、追加の文献も検索した。

各々の研究について、国、研究デザイン、サンプル、歯周病の審査基準、測定の方法、感度および特異性などについて整理した。キーワード検索はMedical Subject Headings (MeSH) と Text words を含めて検索した。

検索の詳細は以下の通りである。

("hemoglobins" [MeSH Terms] OR "hemoglobins" [All Fields]) AND ("gingivitis" [MeSH Terms] OR "gingivitis" [All Fields]) OR ("periodontitis" [MeSH Terms] OR "periodontitis" [All Fields]) AND ("screening" [All Fields] OR "mass screening" [MeSH Terms] OR ("mass" [All Fields] AND "screening" [All Fields]) OR "mass

screening" [All Fields] OR "screening" [All Fields]) AND ("saliva" [All Fields])

人の唾液中の Hb レベルを用いて歯周病のスクリーニングを行った論文のみを対象とし、さらに英文で書かれた文献のみを対象とした。

2) 文献の選択

以上のような条件で検索したところまず 55 の文献がヒットした。そのうち 39 の論文が唾液中の Hb レベルではなく、HbA1c についての研究であったため、除外された。最終的に 16 の文献がレビューされた。

3) スクリーニングの評価法

歯周病のスクリーニング結果を評価する方法として二つの方法が用いられていた。一つは歯周病の臨床的診査基準に対する感度・特異度を用いた方法で、もう一つは相関係数を用いた評価法であった。本研究では前者の研究について文献に記載されている感度・特異度から陽性尤度比、陰性尤度比、Youdon' s Index を求めた。

C. 研究結果

レビューの結果、ひとつの研究は 2 種の市販品について相関係数を用いて比較する研究であり、また 1 つの研究は唾液中の Hb レベルと periodontal index の相関係数を用いたものであった。残りの 14 の研究については唾液中の Hb レベルを歯周病のスクリーニングに用いたものであり、これらの文献を Table1 に示した。Table2 には感度・特異度、陽性尤度比、陰性尤度比、Youden' s Index を計算した結果を示した。

14 の研究のうち 6 つの研究は市販の商品を用い、尿検査や便検査と同じような形で検査会社にて Hb の測定を行う方法を用いていた。うち 3 つの研究ではポリクロナール抗体を用いて Hb を測定しており、残りの 3 つについては比色試験で Hb の測定を行っていた。

また 14 の研究のうち 7 つの研究では試験紙を用いた方法で測定を行っていた。うち 3 つの研究ではモノクロナール抗体を用いて Hb を測定するペリオスクリーン (サンスター) を用いており、残りの 4 つの研究では比色試験を用いていた。

歯周病を評価するゴールドスタンダードに何を用いているかは研究によって様々であった。4 つの研究では Community Periodontal Index (CPI) を用いていた。American academy of periodontology が定めた基準を用いているもの、PD \geq 4 mm を基準として用いているもの、CAL $>$ 3 mm を基準として用いている研究が一つずつあった。CAL $>$ 3 mm を基準として用いている研究のみが縦断研究であり、残りの研究は全て横断研究であった。

検査会社でポリクロナール抗体を測定したのものについて Youden' s indexes を計算したところ、値の範囲は 0.08-0.52 であった。同様に比色試験で測定された研究については 0-0.08、試験紙検査でモノクロナール抗体を用いた方法については 0.24-0.50 であった。それ以外の試験紙法では 0.17-0.57 であった。

また 14 の研究のうち 6 つの研究では他の因子を用いて統計的に調整した値をカットオフポイントに用いていた。

D. 考察

本研究では唾液中の Hb のレベルで歯周病をスクリーニングする文献をレビューした。

しかしながら Hb を測定する方法、歯周病を評価するゴールドスタンダードについては各々の研究により様々な方法が用いられていた。

Hb を測定する方法は主に比色法と抗体反応を利用する二つに分類される。唾液腺から排出される唾液には唾液腺に炎症がある場合を除いて Hb は含まれないのが通常である。従って唾液中に含まれる Hb はほぼ歯周組織からの血液といえる。

Hb はペルオキシダーゼ様作用により過酸化物を分解し、活性酸素を遊離するが、比色法ではこの遊離した活性酸素が試薬成分である還元型色原体を酸化して青色にする性質を利用している。唾液中の Hb の測定にあたってこの比色法の制度は抗体を用いた方法と比較して精度が劣るが、その原因として比色法では動物由来の食物に含まれる Hb にも反応することが挙げられる。一般的には比色法は尿中の Hb を測定する方法として用いられてきたが、尿中には他の動物の血液が混じることは希であり、口腔内には食物の残渣も存在するため、条件が異なると言える。

一方、抗体反応試験は便中の血液検査に用いられている。便中には様々な食物に含まれる Hb が残存しており、このような条件は口腔内の環境と類似しており、口腔内の Hb の検出する試験として抗体反応試験は比色法と比較してより適している。実際、ラボで測定された試験の Youden's Index は比色法の値より優れていた。

今回レビューした研究で用いられていた歯周病の評価方法は様々であった。BOP インデックスは歯肉からの出血を評価する方法である。スクリーニングに BOP (Bleeding on Probing) をゴールドスタンダードとして用いた場合は他の評価法を使用した場合と比較して高い感度・特異度が得られやすい。実際に本研究でも、Youden's Index は 0.19-0.59 と高い値がみられた。PD4mm 以上を用いた場合の Youden's Index は 0.08、American Academy of Periodontology の評価基準を用いた場合は 0.52 であった。

しかしながら歯周病による深い歯周ポケットから必ずしも出血が認められるとは限らないことにも留意しておく必要がある。

14 の研究のうち 3 つの研究は Community Periodontal Index (CPI) をゴールドとして用いていた。元来 CPI は、World Health Organization による調査に用いられる方法であり、歯列を 6 分割し代表の 6 歯について歯周ポケットを測定する方法である。この方法は元々、歯周病のスクリーニングとして用いられることが多い。従って唾液検査を歯周病のスクリーニングに用いられるために CPI をゴールドスタンダードとして用いることは適切ではないといえる。

過去の厚生労働研究で乳酸脱水素酵素 (LDH) がバイオマーカーとして有用であることが報告されているが^{19), 20)}、現在、唾液中の Hb を測定するために日本の薬事法で承認されている商品は試験紙法を含めて、すべて抗体反応を用いた試験である。刺激唾液をラボで測定する方法、安静唾液を用いたサンスターのペリオスクリーンは、日本の薬事法でも承認されており、ある程度確立した方法と言える。

健康診断ですべての検査に統的計に調整したカットオフポイントを適用しているケースは未だに少ないのが現状であるが、本研究では統計的に他の因子で調整をした研究については感度・特異度が改善されている傾向がみられた。これらの研究結果からカットオフポイントは性別、年齢、残存歯数、患者の自覚症状等に依存している値であることがわかる。

今後、唾液を用いた歯周病のスクリーニングに用いるカットオフポイントの設定においては性別、年齢、残存歯数によって調整した値を用いることが必要と言える。

E. 結論

唾液による歯周病のスクリーニングは歯科専門職を必ずしも必要としないため、低コストで導入可能なスクリーニング方法である。今後、性別、年齢、残存歯数によって階層化されたカットオフポイントの設定にはさらなる研究が必要とされる。

F. 引用文献

- 1) Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim)* 2017 11:72-80.
- 2) Taani DQ. "Periodontal awareness and knowledge, and pattern of dental attendance among adults in Jordan", *Int Dent J*, vol 52, no 2, pp.94-98, 2002.
- 3) Okada A, Nomura Y, Sogabe K, et al. Comparison of salivary hemoglobin measurements for periodontitis screening. *J Oral Sci* 2017 59:63-69.
- 4) An YB, He L, Meng HX, et al. Relationship between salivary occult blood and level of volatile sulphur compounds in oral cavity. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2010 45:431-434.
- 5) Burt BA, Roder DM, Cecil JC, et al. Saliva-based colorimetric test as an index of gingival inflammation in epidemiologic studies. *Community Dent Oral Epidemiol* 1978 290-295.
- 6) Abbott BH, Caffesse RG. The reliability of a colorimetric test in determining gingival inflammation. *J Periodontol* 1978 49:564-569.
- 7) Kopczyk RA, Graham R, Abrams H, et al. The feasibility and reliability of using a home screening test to detect gingival inflammation. *J Periodontol* 1995 66:52-54.
- 8) Nomura Y, Tamaki Y, Tanaka T, et al. Screening of periodontitis with salivary enzyme tests. *J Oral Sci* 2006 48:177-183.
- 9) Kugahara T, Shosenji Y, Ohashi K. Screening for periodontitis in pregnant women with salivary enzymes. *J Obstet Gynaecol Res* 2008 34:40-46.
- 10) Ohshima M, Zhu L, Yamaguchi Y, et al. Comparison of periodontal health status and oral health behavior between Japanese and Chinese dental students. *J Oral Sci* 2009 51:275-281.
- 11) Shimazaki Y, Akifusa S, Takeshita T, et al. Effectiveness of the salivary occult blood test as a screening method for periodontal status. *J Periodontol* 2011 82:581-587.
- 12) Pham TA, Ueno M, Shinada K, et al. Periodontal disease and related factors among Vietnamese dental patients. *Oral Health Prev Dent* 2011 9:185-194.
- 13) Nomura Y, Tamaki Y, Eto A, et al. Screening for periodontal diseases using salivary lactate dehydrogenase, hemoglobin level, and statistical modeling. *J Dent Sci* 2012 7: 379-383.
- 14) Nomura Y, Shimada Y, Hanada N, et al. Salivary biomarkers for predicting the progression of chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 2012 57:413-420.
- 15) Nam SH, Jung H, Kang SM, et al. Validity of Screening Methods for Periodontitis Using Salivary Hemoglobin Level and Self-Report Questionnaires in People with

Disabilities. J Periodontol 2015 86:536-545.

16) Reed SG, Manz MC, Snipe SM, et al. Feasibility study of a salivary occult blood test to correlate with periodontal measures as indicators of periodontal inflammation in a population of pregnant women. J Oral Sci 2015 57:55-58.

17) Nomura Y, Okada A, Kakuta E, et al. A new screening method for periodontitis: an alternative to the community periodontal index. BMC Oral Health 2016 2;16:64.

18) Maeng YJ, Kim BR, Jung HI, et al. Diagnostic accuracy of a combination of salivary hemoglobin levels, self-report questionnaires, and age in periodontitis screening. J Periodontal Implant Sci 2016 46:10-21.

19) 厚生労働省科学研究費補助金 効果的な歯周疾患のリスク判定法および予防体系の開発 平成15年度～17年度 総合研究報告書

20) 厚生労働省科学研究費補助金 口腔内細菌叢の変化を指標にした後期高齢者の老人性肺炎の予知診断システムの開発: 分担研究 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 H20年度 統括・分担研究報告書、p37-41

G. 研究発表

1) Yoshiaki Nomura, Ayako Okada, Yoh Tamaki and Hiroko Miura. Salivary Levels of Hemoglobin for Screening Periodontal Disease: a Systematic Review. International Journal of Dentistry. Volume 2018, Article ID 2541204, 8 pages
<https://doi.org/10.1155/2018/2541204>

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 文献一覧

Article No.	Author(s) and year published	Title of Journal	Journal	Number of Subjects
5	Burt BA., et al 1978	Saliva-based colorimetric test as an index of gingival inflammation in epidemiologic studies	Community Dent Oral Epidemiol.	253
6	Abbott BH., et al 1978	The reliability of a colorimetric test in determining gingival inflammation	J Periodontol.	81
7	Kopczyk RA., et al 1995	The feasibility and reliability of using a home screening test to detect gingival inflammation	J Periodontol.	50
8	Nomura Y., et al 2006	Screening of periodontitis with salivary enzyme tests	J Oral Sci.	187
9	Kugahara T., et al 2008	Screening for periodontitis in pregnant women with salivary enzymes	J Obstet Gynaecol Res.	221
10	Ohshima M., et al 2009	Comparison of periodontal health status and oral health behavior between Japanese and Chinese dental students	J Oral Sci.	92
11	Shimazaki Y., et al 2011	Effectiveness of the salivary occult blood test as a screening method for periodontal status	J Periodontol.	1998
12	Pham TA., et al 2011	Periodontal disease and related factors among Vietnamese dental patients	Oral Health Prev Dent.	243
13	Nomura Y., et al 2012	Screening for periodontal diseases using salivary lactate dehydrogenase, hemoglobin level, and statistical modeling	J Dent Sci. (2012)	101
14	Nomura Y., et al 2012	Salivary biomarkers for predicting the progression of chronic periodontitis	Arch Oral Biol. (2012)	85
15	Nam SH., et al 2015	Validity of screening methods for periodontitis using salivary hemoglobin level and self-report questionnaires in people with disabilities	J Periodontol.	195
16	Reed SG., et al 2015	Feasibility study of a salivary occult blood test to correlate with periodontal measures as indicators of periodontal inflammation in a population of pregnant women	J Oral Sci.	23
17	Nomura Y., et al 2016	A new screening method for periodontitis: an alternative to the community periodontal index	BMC Oral Health.	92
18	Maeng YJ., et al 2016	Diagnostic accuracy of a combination of salivary hemoglobin levels, self-report questionnaires, and age in periodontitis screening	J Periodontal Implant Sci.	202

表 2. 該当論文の検査手法及び評価法と感度・特異度

References	Subjects	Exclusion criteria	Definition of Periodontitis	Measuring Method		Saliva sample	Adjustment	Results				
				Reaction	Products			Sensitivity	Specificity	Positive Likelihood ratio	Negative likelihood ratio	Youden's Index
Laboratory Examination												
Nomura Y., et al 2006	187 subjects (mean age 37.2 +/- 9.6 years)	-	PD >= 4 mm	Colorimetric tes	-	Stimulated saliva	-	0.27	0.81	1.42	1.11	0.08
Kugahara T., et al 2008	221 pregnant women (mean age:30 +/- 4 years)	Current smoker and subjects with not sufficient saliva were excluded	Periodontitis (CPITN 3, 4)	Colorimetric tes	Salivastar-Bld	-	-	0.37	0.91	4.11	1.44	0.28
							Combination with LDH	0.68	0.74	2.62	2.31	0.42
Nomura Y., et al 2012	187 subjects (mean age: 37.2 +/- 9.6 years)	-	PD >= 4 mm	Colorimetric tes	-	Stimulated saliva	-	0.27	0.81	1.42	1.11	0.08
Nomura Y., et al 2012	85 patients with chronic periodontitis	Clinical attachment level (CAL) of 3 mm in at least three subsequent	Progression of CAL >= 3 mm	Colorimetric tes	-	Stimulated saliva	-	0.32	0.68	1	1	0
Nam SH., et al 2015	The participants were 195 patients with disabilities (aged >18 years)	-	CPI scores of 3-4	Polyclonal antibody reaction	OC-HEMODIA AUTO S	Stimulated saliva	-	0.41	0.77	1.78	1.31	0.18
			CPI scores of 4				-	0.53	0.75	2.12	1.6	0.28
			CPI scores of 3-4				with questionnaire	0.58	0.76	2.42	1.81	0.34
			CPI scores of 4				with questionnaire	0.73	0.74	2.81	2.74	0.47
			CPI scores of 3-4				with questionnaire and age	0.7	0.76	2.92	2.53	0.46
			CPI scores of 4				with questionnaire and age	0.71	0.8	3.55	2.76	0.51
Nomura Y., et al 2016	92 subjects (mean age: 50.03 years)	Patients older than 20 years who had more than 20 teeth remaining were included	Center for Disease Control and Prevention in partnership with the American Academy of Periodontology	Polyclonal antibody reaction	OC-HEMODIA AUTO S	Stimulated saliva	-	0.76	0.76	3.2	3.17	0.52
Maeng YJ., et al 2016	202 subjects (age: 20 to 79 years)	Pregnant, had undergone a periodontal operation within the past month, or had an injury accompanied by oral bleeding, such as a wound or ulcer	CPI scores of 3-4	Polyclonal antibody reaction	OC-HEMODIA AUTO S	Stimulated saliva	-	0.71	0.56	1.61	1.93	0.27
			CPI scores of 4				-	0.6	0.72	2.14	1.8	0.32
			CPI scores of 3-4				with questionnaire	0.71	0.68	2.25	2.38	0.4
			CPI scores of 4				with questionnaire	0.65	0.77	2.79	2.17	0

表 2. 続き

References	Subjects	Exclusion criteria	Definition of Periodontitis	Measuring Method		Saliva sample	Adjustment	Results				
				Reaction	Products			Sensitivity	Specificity	Positive Likelihood ratio	Negative likelihood ratio	Youden's Index
Paper strip												
Burt BA., et al 1978	136 school children, 52 adult dental hygiene school students (age: 24 to 32) and 65 adult in correctional Institution (age: 18 to 66)		GI score (0-0.6, <1.2, <1.21,	Colorimetric tes	Gindex	Resting saliva	School children					
			GI > 0.6					0.42	0.64	1.17	1.1	0.06
			GI > 1.2					0.5	0.63	1.35	1.26	0.13
			GI > 0.6					0.65	0.76	2.71	2.17	0.41
			GI > 1.2					0.67	0.53	1.43	1.61	0.2
			GI > 0.2					0.25	0.64	0.69	0.85	-0.11
			GI > 0.4					0.16	0.67	0.48	0.8	-0.17
Abbott BH., et al 1978	81 subjects (age: 15 to 60 years)		GI > 0	Colorimetric tes	Gindex	Before any clinical examination		0.83	0.63	2.24	3.71	0.46
			GI > 1					1	0.46	1.85	-	0.46
			GI > 2					1	0.29	1.41	-	0.29
Kopczyk RA., et al 1995	50 patients with 20< teeth 27 (age: 27 to 72 years)	Using aspirin or non-steroidal anti-inflammatory drugs. Those with bleeding disorders, ulcerating oral lesions, or medical contraindications	BOP>30%	Colorimetric tes	Seracult	Resting saliva before and after tooth brush	Before tooth brush	0.19	1	-	1.23	0.19
			BOP> 50%					0.56	0.97	18.67	2.2	0.53
			BOP>30%					0.75	0.82	4.17	3.28	0.57
			BOP> 50%					0.85	0.66	2.5	4.4	0.51
Ohshima M., et al 2009	92 dental school students (mean age: 22.1 years)	-	-	Monoclonal antibody reaction	Perioscreen SUNSTAR	-	-	-	-	-	-	
Shimazaki Y., et al 2011	1998 subjects with 20 < teeth (age: 40 to 79)	-	BOP >= 15% or at least one PD >= 4 mm	Monoclonal antibody reaction	Perioscreen SUNSTAR	Rinse 3 ml distilled water for 10 sec 8:00 am to 11:00 am before oral	-	0.69	0.55	1.53	1.77	0.24
Pham TA., et al 2011	243 subjects	-	-	Monoclonal antibody	Perioscreen SUNSTAR	-	-	0.75	0.75	2.96	3.01	0.5
Reed SG., et al 2015	23 pregnant women (age: 18 to 45 years)	Pre-existing parathyroid disease or uncontrolled thyroid disease, multiple fetuses (e.g., twins, triplets), pre-existing sickle cell disease (not trait only), sarcoidosis, Crohn's disease, or ulcerative colitis.	-	Monoclonal antibody reaction	Perioscreen SUNSTAR	-	-	-	-	-	-	-

