

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11415

研究課題名(和文) 歯肉炎をスクリーニングするための唾液マーカーの創設

研究課題名(英文) Establishment of saliva marker for screening gingivitis.

研究代表者

竹内 真由 (Takeuchi, Mayu)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：90745382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：唾液を用いた侵襲性の少ない歯肉炎のスクリーニング検査方法の有用性について検討した。大学生を対象に横断研究で唾液中の乳酸脱水素酵素と歯肉炎との関連を調べ、縦断研究では、唾液中の口腔細菌叢と歯肉炎の進行との関連について調べた。唾液中の乳酸脱水素酵素と歯肉炎とは有意な関連が示唆されたが、大学生において唾液中の口腔細菌叢と歯肉炎の進行との間には有意な関連はなかった。

研究成果の概要(英文)：We investigated the usefulness of non-invasive screening for gingivitis using saliva. Among university students, we investigated the association between gingivitis and lactate dehydrogenase level in saliva in a cross-sectional study and the association between oral microflora in saliva and progression of gingivitis in a longitudinal study. The level of lactate dehydrogenase in saliva was significantly associated with gingivitis. However, there was no significant association between oral microflora and progression of gingivitis in university students.

研究分野：口腔衛生学

キーワード：歯肉炎 スクリーニング 唾液LDH 口腔細菌叢 次世代シーケンサー

1. 研究開始当初の背景

口腔疾患のうち、齲蝕と歯周病は2大疾患と言われており、歯牙喪失の主たる原因である。特に歯周病罹患者は30~34歳で33.1% (2018年度歯科疾患実態調査, 厚生労働省) となっており、年齢を重ねるごとにその罹患者率は増悪している。歯周病は可逆的な歯肉炎から病状が悪化すると不可逆的な歯周炎に移行するため、歯肉炎のうちに治療介入を行うことが望ましい。そこで、歯肉炎を簡便にかつ非侵襲的にスクリーニングを行うことは国民の健康増進について有益であるという着想に至った。本研究では、特に口腔内で採取を行うのに非侵襲性が高い唾液に着目した。一方、次世代シーケンサーの開発により、口腔細菌叢の解明が著しく進んでいる。そこで、口腔細菌叢と歯肉炎に何らかの関係があるのではないかという仮説を立て、スクリーニングに応用できるかどうか検討を加えた。

2. 研究の目的

本研究では、横断研究において、歯肉炎と唾液中の乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase: LDH) との関連性を検討し、縦断研究において、歯肉炎の進行と口腔細菌叢との関連性を検討することにより、歯肉炎のスクリーニングのマーカーになりえる可能性があるかを探索することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 唾液 LDH を用いた歯肉炎のスクリーニング評価基準の設定
岡山大学の学生を対象に研究同意を得られた非喫煙者の70名を対象とした。唾液 LDH レベルの診査および口腔内診査を行った。具体的には以下の項目である。
●安静時唾液の採取
●唾液 LDH レベル: PD-1® (長田産業)
●口腔内診査: 歯周ポケット深さ (Probing Pocket Depth: PPD)、クリニカルアタッチメントレベル (Clinical Attachment Level: CAL)、プロービング時の出血 (%Bleeding on Probing: %BOP)、歯周清掃状態 (O'Leary の Plaque Control Record: PCR)
●自己記入式質問票: 年齢、性別、全身疾患の有無、全身状態、検査直前のブラッシングの有無
統計分析では「%BOP が20%以上の者」を歯肉炎群、「20%未満の者」を健康群とし、2群比較を行い、ロジスティック回帰を行った。

大規模集団を対象とした唾液 LDH を用いた歯肉炎と他の指標との関連
岡山大学の学生を対象に研究同意を得られた1,915名を対象とした。唾液 LDH レベルの診査および口腔内診査、口腔保健行動の調査を行った。具体的には以下の項目の通りである。
●安静時唾液の採取
●唾液 LDH レベル: PD-1® (長田産業)
●口腔内診査: 現在歯数、第三大臼歯の萌出の有無、口腔清掃状態の評価 (Simplified Oral Hygiene Index: OHI-S)
●Body Mass Index: BMI を身長、体重より算出
●自己記入式質問票: 性別、全身疾患の有無、内服薬の有無、喫煙の有無、口腔保健行動 (一日の歯磨き回数、デンタルフロスの使用の有無、歯科定期健診受診の有無)

統計分析では、「唾液 LDH レベルが8以上の者」を歯周病群、「8未満の者」を健康群と定義し、対応のない t 検定、 χ^2 乗検定およびロジスティック回帰を行った。

(2) 歯肉炎の進行と口腔細菌叢との関連
平成25年に岡山大学新入生歯科健康診査を受診した者のうち平成28年の岡山大学在学学生歯科健康診査を受診した69名を対象とした。口腔内診査、自己記入式質問票にて調査を行った。具体的には以下の項目の通りである。
●口腔内診査: PPD、CAL、%BOP、PCR
●自己記入式質問票: 一日の歯ブラシ回数、デンタルフロスの使用の有無、歯科定期健診の受診の有無
●安静時唾液の採取 (平成28年度のみ実施)
統計分析では平成28年度の%BOPが20%以上増加した者を歯肉炎進行群、それ以外の者を健康群とし、2群比較を行った。また採取した唾液中の口腔細菌叢を16SrDNA解析 (次世代シーケンサー) にて測定し、非階層クラスター分析 k-means 法および主成分分析によりコミュニティタイプ および の2群に分け、2群比較をした。

4. 研究成果

(1) 唾液 LDH を用いた歯肉炎のスクリーニング評価基準の設定
健康群は歯肉炎群と比較して男性、唾液 LDH レベル、平均 PPD、%BOP が有意に低かった (表1、2)。

表1. 対象の特性

	数(%)もしくは平均±標準偏差
男性	29 (41.4)
年齢 (歳)	24.1±2.6
唾液 LDH レベル	4.6±1.7
現在歯数 (本)	28.2±1.9
平均 PPD (mm)	1.9±0.20
%BOP	10.9±8.8
PCR (%)	51.7±23.9

表2. 健康群と歯肉炎群との比較

	健康群 (n=61)	歯肉炎群 (n=9)	P [§]
男性	22 (36.1)*	7 (77.8)	0.018
年齢 (歳)	24±2.7†	24.4±2.4	0.651
現在歯数 (本)	28±1.9	29.2±1.9	0.088
平均 PPD (mm)	1.8±0.1	2.1±0.2	<0.001
%BOP	7.7±4.0	30.9±4.3	<0.001
LDH	<8	60 (98.4)	<0.001
	≥8	1 (11.1)	
PCR (%)	49.8±24.3	64.4±16.8	0.087

*数 (%), †平均±標準偏差, ‡中央値 (25%, 75%), §Fisher の正確確立検定, Mann-Whitney U 検定, 対応のない t 検定

Spearman の相関関係係数では唾液 LDH レベルと現在歯数、平均 PPD、%BOP、PCR との間に正の相関がみられた (表3)。ロジスティック回帰では唾液 LDH レベルと%BOP との間に関連がみられオッズ比 1.473

であった(表 4, 5)。以上より唾液 LDH レベルと歯肉炎との間に相関があることが示唆された。

表 3. 唾液 LDH レベルと独立変数との関連

	$\rho^{ }$	P
年齢 (歳)	0.175	0.175
現在歯数	0.261	0.029
平均 PPD (mm)	0.483	<0.001
%BOP (%)	0.777	<0.001
PCR (%)	0.288	0.015

^{||}Spearman の相関関係係数

表 4. 唾液 LDH レベルについてのロジスティック回帰

	Adjusted OR [¶]	95%信頼区間	P
%BOP (%)	1.473	1.132-1.916	0.004

OR: odd ratio

[¶]調整変数: 現在歯数、平均 PPD、%BOP、PCR

表 5. 予備実験の結果

LDH レベル	健康群 (n=15)	歯周病群 (n=3)	合計
Negative	14	1	15
Positive	1	2	3

大規模集団を対象とした唾液 LDH を用いた歯肉炎と他の指標との関連

2 群間では、健康群と比較して歯周病群の方が男性、現在歯数、OHI-S、第三大臼歯の萌出が放出している者、歯科定期健診の受診をしていない者が有意に多かった(表 6)。

表 6. 健康群と歯肉炎群との比較

	健康群 (n=1,827)	歯肉炎群 (n=88)	P [§]	
年齢	21.4±2.5 [†]	21.4±1.8	0.927	
性別 (男性)	925 (50.6) [*]	56 (63.6)	0.017	
現在歯数	29.1±1.7	29.6±1.8	0.013	
OHI-S	0.46 ±0.50	0.87 ±0.62	<0.001	
第三大臼歯の萌出有り	900 (49.3)	54 (61.4)	0.027	
BMI	痩せ	273 (14.9)	12 (13.6)	0.246
	正常	1415 (77.4)	65 (73.9)	
	過体重・肥満	139 (7.6)	11 (12.5)	
全身疾患有り	70 (3.8)	5 (5.7)	0.382	
内服薬有り	247 (13.5)	8 (9.1)	0.232	
喫煙習慣有り	67 (3.7)	6 (6.8)	0.132	
一日の歯磨き回数 (2回)	1481 (81.1)	68 (77.3)	0.377	
デンタルフロス使用有り	288 (15.8)	15 (17.0)	0.748	
歯科定期受診有り	256 (14.0)	3 (3.4)	0.004	

^{*}数 (%), [†]平均±標準偏差, [§]Fisher の正確確立検定, χ^2 乗検定, 対応のない t 検定

ロジスティック回帰では唾液 LDH レベルで調べた歯肉炎の有無と OHI-S (オッズ比 2.68、95%信頼区間 1.94-3.69) 歯科定期健診の受診 (オッズ比 0.31、95%

信頼区間 0.10-0.99) との間に関連があることが示唆された。

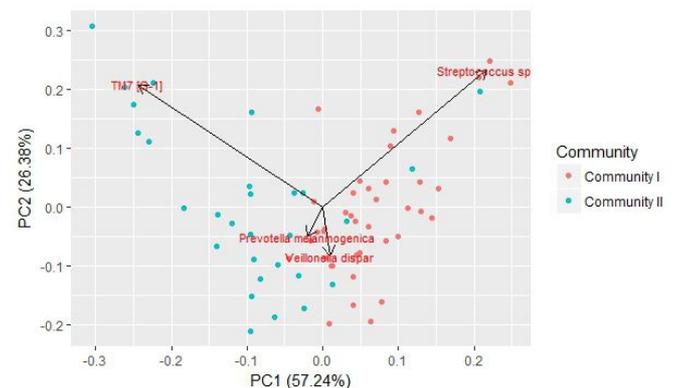
(2) 歯肉炎の進行と口腔細菌叢との関連

平成 25、28 年度ともに進行群 (n=44) は健康群 (n=25) と比較し有意に DI-S、OHI-S、%BOP が高かった。その他の項目では統計学的な有意差は見られなかった(表 7)。

表 7. 健康群と歯周病進行群との比較(n=69)

	H25 年度			H28 年度		
	進行群 n=44	健康群 n=25	P**	進行群 n=44	健康群 n=25	P
男性	14* (31.9)	7 (28.0)				
年齢 (歳)	18.18 ± 0.39 [†]	18.24 ± 0.52	0.63			
現在歯数	28.52 ± 1.17	28.36 ± 1.75	0.349	29.13 ± 1.63	28.92 ± 1.80	0.773
歯ブラシ回数 2 回以上	37 (84.1)	22 (88.0)	0.869	38 (86.4)	22 (88.0)	0.425
1 回以下	7 (15.9)	3 (12.0)		6 (13.6)	3 (12.0)	
フロスの使用有	3 (6.8)	3 (12.0)	0.706	8 (18.2)	7 (28.0)	0.372
定期健診の受診有	10 (22.7)	7 (28.0)	0.826	7 (15.9)	8 (32.0)	0.152
DI-S	0.4 ± 0.35	0.23 ± 0.25	0.018	0.36 ± 0.36	0.16 ± 0.31	0.018
OHI-S	0.61 ± 0.60	0.28 ± 0.29	0.003	0.49 ± 0.50	0.26 ± 0.57	0.11
% BOP	32.27 ± 25.59	19.6 ± 5.13	0.016	45 ± 15.12	12 ± 10.00	<0.001

数 (%), [†]平均±標準偏差, ^{**} χ^2 乗検定, 対応のある t 検定



コミュニティタイプ はコミュニティタイプ と比較して統計学的な有意差は見られなかった(表 8)。

表 8 . コミュニティタイプの特定

		コミュニティタイプ (n=43)	コミュニティタイプ (n=26)	P
年齢 (歳)		21.3 ±0.49 [†]	21.1 ±0.3	0.412**
性別	男	13 (41.8)	8 (30.8)	0.245
現在歯 数		28.95 ±1.75	29.17 ±1.89	0.582
歯ブラ シ回数	2回 以上	33 (76.4)	26 (100.0)	0.353
	1回 以下	10 (23.6)	0 (0.0)	
フロスの 使用	有	8 (18.6)	8 (30.8)	0.152
定期健 診	有	8 (18.7)	7 (26.9)	0.131
BMI		20.5 ±3.10	20.6 ±2.80	0.748
DMFT		2.3 ±3.30	2.3 ±2.90	0.596
CI-S		0.15 ±0.31	0.06 ±0.21	0.307
DI-S		0.29 ±0.36	0.31 ±0.36	0.829
OHI-S		0.43 ±0.58	0.37 ±0.47	0.88
%BOP		33.5 ±22.7	32.3 ±18.2	0.88
不正咬 合	有	24 (55.8)	18 (69.2)	0.447
CPI	0	2 (4.7)	0 (0.0)	0.698
	1	4 (9.3)	5 (19.2)	
	2	11 (25.6)	4 (15.4)	
	3	23 (53.5)	17 (65.4)	
	4	3 (6.9)	0 (0.0)	

*数(%),[†]平均±標準偏差,** χ^2 乗検定,Mann-Whitney U検定

結論として、唾液 LDH と歯肉炎とは有意な関連が示唆されたが、大学生において唾液中の口腔細菌叢と歯肉炎の進行との間には有意な関連はなかった。唾液 LDH は歯肉炎のスクリーニングに有用である可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等。

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)
〔雑誌論文〕(計 2件)

1. Ekuni D, Yamane-Takeuchi M, Kataoka K, Yokoi A, Taniguchi-Tabata A, Mizuno H, Miyai H, Uchida Y, Fukuhara D, Sugiura Y, Tomofuji T, Morita M. Validity of a new kit measuring salivary lactate dehydrogenase level for screening gingivitis. Dis Markers. 2017; 2017: 9547956. doi: 10. 1155/2017/9547956 (査読有り).
2. Taniguchi-Tabata A, Ekuni D, Azuma T, Yoneda T, Yamane-Takeuchi M, Kataoka K, Mizuno H, Miyai H, Iwasaki Y, Morita M. Association between gingivitis and related

factors in Japanese university students using salivary lactate dehydrogenase level. J Oral Sci. 2018 (accepted) (査読有り)

〔学会発表〕(計 2件)

1. Taniguchi A, Mizutani S, Ekuni D, Yamane M, Kawabata Y, Miyai H, Mizuno H, Morita M. Association between salivary lactate dehydrogenase activity and periodontal parameters of young adults in a large-scale epidemiological survey. Europerio 8, London, June 3-6, 2015.
2. Ekuni D, Sakumoto-Kataoka M, Morita M. Relationship between salivary lactate dehydrogenase activity and gingivitis in young adults. Europerio 8, London, June 3-6, 2015.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

○取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

http://www.cc.okayama-u.ac.jp/~preventive_dentistry/top.html

6 . 研究組織

(1)研究代表者

竹内 真由 (MAYU TAKEUCHI)
岡山大学・大学病院・助教
研究者番号：90745382

(2)研究分担者

森田 学 (MANABU MORITA)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：40157904

江國 大輔 (DAISUKE EKUNI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：70346443

友藤 孝明 (TAKA AKI TOMOFUJI)

朝日大学・歯学部・教授
(口腔感染医療学、社会口腔保健学)
研究者番号：80335629

水谷 慎介 (SHINSUKE MIZUTANI)

岡山大学・大学院医歯薬総合研究科・助教
研究者番号：90643312