

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17201

研究課題名（和文）多項目検出簡易型歯周病検査キットの開発と成人歯科検診への応用

研究課題名（英文）Development of simple periodontal disease detection device and its application to measure the states of adult periodontitis

研究代表者

井上 真紀（Inoue, Maki）

九州歯科大学・その他部局等・助教

研究者番号：30882667

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：歯科健診において簡便かつ科学的根拠に基づいた歯周病検査方法が強く求められている。本研究では、新たに開発した歯周病原細菌特有の酵素活性の測定キットの有効性を検証した。すでに同測定キットの検査結果は、従来の歯周ポケット検査と相関することが確認されている。そこで被験者数を増やし、1000名以上より採取した舌苔拭い液を対象とした検査を行った。その結果、測定キットのスコアは、歯科医師による従来の歯周病検査結果と相関することが示され、特に重度歯周病については、優れた判別能を示した。さらに、他施設就業労働者における全身のパラメータと突合せた解析では、歯周炎患者において腎機能が低下していることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病患者数は増加傾向にあり、医療や介護の現場で大きな問題となっている。このような社会的状況のなか、平成28年の「国民健康・栄養調査」において、過去1年の歯科検診受診者は52.9%であり、歯周病の患者数の推移を考えると十分な対応とは考えにくい。開発した歯周病検査キットの使用は、口腔検査が実行できない大規模集団に対する歯周病検査法として有用性が高く、将来的には、歯周病および関連する全身状態についての研究展開のため、費用対効果の高いスクリーニングを可能にすると期待される。加えて、生体分子を標的とした検査法の確立により、生体反応を含めたより精度の高い歯周病検査の遂行が可能となる。

研究成果の概要（英文）：There is a strong demand for a simple and scientifically-based method for periodontal disease examination. In the present study, the effectiveness of a newly developed kit for measuring enzyme activities specific to periodontopathogenic bacteria was verified. It has already been confirmed that the test results of the kit correlate with those of conventional periodontal pocket tests. Therefore, the number of subjects was increased and tests were conducted on tongue wipes collected from more than 1000 people. The results showed that the scores of our fabricated kit correlated with the results of conventional periodontal disease examinations by dentists and showed excellent discriminatory ability, especially for severe periodontal disease. Furthermore, in an analysis of systemic parameters in workers employed at other institutions, it was found that renal function was reduced in patients with periodontitis.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周病 簡易検査 免疫クロマトグラフィ

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯周病の有病率は上昇の一途にあり、近年、歯周病が種々の全身疾患に關与するエビデンスが蓄積されている。しかし、企業歯科検診を始め、成人歯周病歯科 検診受診率はきわめて低く、歯科保健という点では、歯周病患者数の把握は、十分な体制であるとは言い難い。その原因として、歯科検診に係る時間が長く、職場離脱時間という点で改善の余地があることに加え、現行の歯周病検査が、歯科医師の手技に依存する再現性の乏しい主観的判断(目視・歯周ポケットの深さ測定等)に基づいていることが挙げられる。そのようななか、歯科健診において簡便かつ科学的根拠に基づいた歯周病検査方法が強く求められている。本研究では、我々の研究グループが新たに開発した歯周病原細菌特有の酵素活性の測定キットの有効性を検証し、新たな歯周病検査を開発する。

2. 研究の目的

歯周病診査・診断法の新たな方法として、歯周病原性細菌が特異的に産生する N-benzoyl-DL-arginine peptidase (トリプシン様ペプチダーゼ)の活性を測定する新しいキット (TLP-AA-Kit)を開発した。このキットは、口腔内の舌表面拭い液を検体とするため、収集は短時間(数秒)、低侵襲性で、訓練を要しない。また、小規模ではあるが、性能試験において、従来の歯周病検査と同等の歯周病検出率が確認されている。

そこで申請研究では、歯周炎のスクリーニング法としての TLP-AA-Kit の有効性を調べることを目的として研究を展開した。これにより、科学的根拠に基づいた新たな歯周病検査・診断方法を提案し、将来的には、治療方針・予後との関連性についての客観性の高いエビデンスの証明を目指していく。加えて、より詳細な歯周病検査の実現を目指して、その他の歯周炎の発症と増悪に關わる生体分子の検出を目的とした検査キットの開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) TLP-AA-Kit の性能試験

2018年に我々が実施したパイロット調査において、TLP-AA-Kit は、従来の歯周病検査結果と有意な相関があることが示された。そこで今回、定期歯科受診の時間を作ることの難しい就業者を対象として、従来型の歯周病検査と TLP-AA-Kit を用いた検査を実施する。申請者所属施設の寄附講座(歯周医学)の人的、機器など種々のリソースを活用して研究を遂行する。就業者を対象とした歯科検診および調査研究については、2019年度より実施しており、本申請研究も継続した調査研究の中で、遂行可能であることから、参加者のリクルートを行い、インフォームド・コンセントを取得して遂行した。有歯顎者を対象に、従来の歯周病検査(歯周ポケット診査等)と TLP-AA-Kit を用いた検査の実施とデータ収集を行った。データ収集完了後、統計解析を実施した。本研究結果については、学会および国際学術誌にて発表を行った。

(2) 生体分子を標的とした検査キットの開発

標的の生体分子として、炎症性サイトカインである interleukin-1 (IL-1)、interleukin-6 (IL-6)、tumor necrosis factor- (TNF) を検出可能な免疫クロマトグラフィを開発する。目標とする測定最終形態がサンドイッチ検出であるため、1つの抗原につき、抗原エピトープの異なる複数種のモノクローナル抗体を作製しなければならない。既に各種炎症性サイトカインの抗体は精製済みで、これらを用いた免疫クロマトの試作に成功した。

従来型のイムノクロマトグラフィで使用される金コロイド粒子は 40~80 nm が主流であるが、高感度化のためには、金コロイド粒子を大きくすることが要求される。しかしながら、金コロイド粒子の粒径が 100 nm 以上になると、目視下では、赤紫色から金色に近づいていくため、粒子を大きくすることで検出感度を上げることは不可能である。この問題点に対し、申請者はナノコンポジット粒子を応用し、ナノコンポジットビーズの粒径は 370~430 nm まで大きくすることが可能であることから、これを応用した抗原検出抗体により、目視下における検出感度が増強され、微量の炎症性メディエータでも検出できることを明らかにした。これまでに蓄積した知見をもとに、最低検出感度・感度・再現性・検出範囲・安定性において、歯周炎の症状に対応した適切な測定系を確立できる可能性が高いレベルまで改善することが出来た。

4．研究成果

我々のグループの研究成果として、同測定キットの検査結果が従来 of 歯周ポケット検査の結果と相関することが確認されている。そこで今回は、被験者数を増やし、歯周病の重症化予防に資する歯周病検診方法を確立し、成人就業労働者に対する検診としての有効性を検証した。1000名以上より採取した舌苔拭い液を対象とした検査を行った。その結果から測定キットのスコアは、歯科医師による従来 of 歯周病検査結果と相関することが示され、特に重度歯周病については、優れた判別能を示した。さらに、他施設就業労働者における全身的パラメータと突合するといった解析を行い、歯周炎患者において腎機能が低下していることを見出した。

併せて精製したモノクローナル抗体を用いて、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* と炎症性メディエータである IL-1、IL-6 および TNF- α の免疫クロマトグラフィを試作し、定量的な測定法として歯周炎のスクリーニング検査として使用できることを示唆するデータが得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Iwasaki Masanori, Usui Michihiko, Ariyoshi Wataru, Nakashima Keisuke, Nagai-Yoshioka Yoshie, Inoue Maki, Kobayashi Kaoru, Borgnakke Wenche S., Taylor George W., Nishihara Tatsuji	4. 巻 11
2. 論文標題 Validation of a self-report questionnaire for periodontitis in a Japanese population	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-93965-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Iwasaki Masanori, Usui Michihiko, Ariyoshi Wataru, Nakashima Keisuke, Nagai-Yoshioka Yoshie, Inoue Maki, Kobayashi Kaoru, Nishihara Tatsuji	4. 巻 16
2. 論文標題 Evaluation of the ability of the trypsin-like peptidase activity assay to detect severe periodontitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0256538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0256538	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Iwasaki Masanori, Usui Michihiko, Ariyoshi Wataru, Nakashima Keisuke, Nagai Yoshioka Yoshie, Inoue Maki, Kobayashi Kaoru, Nishihara Tatsuji	4. 巻 56
2. 論文標題 Interruption of regular dental visits during the COVID 19 pandemic due to concerns regarding dental visits was associated with periodontitis in Japanese office workers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Periodontal Research	6. 最初と最後の頁 1091 ~ 1098
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jre.12923	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Iwasaki Masanori, Usui Michihiko, Ariyoshi Wataru, Nakashima Keisuke, Nagai Yoshioka Yoshie, Inoue Maki, Kobayashi Kaoru, Nishihara Tatsuji	4. 巻 49
2. 論文標題 Sleep duration and severe periodontitis in middle aged Japanese workers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Periodontology	6. 最初と最後の頁 59 ~ 66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jcpe.13561	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Iwasaki Masanori, Usui Michihiko, Ariyoshi Wataru, Nakashima Keisuke, Nagai-Yoshioka Yoshie, Inoue Maki, Kobayashi Kaoru, Borgnakke Wenche S., Taylor George W., Nishihara Tatsuji
2. 発表標題 Validation of Self-reported Measures of Periodontitis in a Japanese Population
3. 学会等名 The International Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nishihara Tatsuji, Iwasaki Masanori, Usui Michihiko, Ariyoshi Wataru, Nakashima Keisuke, Nagai Yoshioka Yoshie, Inoue Maki, Kobayashi Kaoru
2. 発表標題 Validation of theTrypsin-like Peptidase Activity Assay for Periodontitis Detection
3. 学会等名 The International Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------