

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：32650

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870753

研究課題名(和文) 抗菌ペプチドディフェンシンの口腔粘膜における発現変化の検索

研究課題名(英文) Investigation of Factors Affecting Expression of Antimicrobial Peptide Defensin on Oral Mucosal Epithelium

研究代表者

大神 浩一郎(Ogami, Koichiro)

東京歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：40366175

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)： 義歯装着者において口腔衛生状態が不良にもかかわらず、口腔粘膜の炎症が認められない症例が見受けられる。これは、抗菌ペプチドであるディフェンシンが関与していると考えられる。本研究は、唾液中のディフェンシン量に影響を及ぼす因子について検討を行った。対象は健常有歯顎者22名とし、ディフェンシン量を目的変数、総嫌気性菌数、安静時唾液量、カンジダ菌数、舌苔付着程度を説明変数としたロジスティック回帰分析後、ステップワイズ法にて解析を行った結果、総嫌気性菌数が関連する因子として抽出された。

研究成果の概要(英文)： Some denture wearers with poor oral hygiene do not exhibit these inflammation. It is considered that expression of antimicrobial peptide defensin is related though the factors involved in the level of expression of defensin. The purpose of this study was to clarify the associated factors of beta-defensin level in healthy subjects.

Healthy 22 dentulous subjects who were not affected by systemic disease or medication were enrolled in the study. Salivary beta-defensin level was measured using an enzyme-linked immunosorbent assay. The number of total anaerobic bacteria in saliva, flow rate of resting whole saliva and tongue coating status were measured. Subjects were asked to answer the questionnaire. Stepwise logistic regression analysis was used to identify which factors were associated with beta-defensin levels. The stepwise logistic regression analysis showed that total anaerobic bacterial count in saliva was significantly associated with beta-defensin level.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：Defensin 抗菌ペプチド 唾液

## 1. 研究開始当初の背景

日本における高齢化率は 2008 年度には 22.1%となり本格的な超高齢社会に突入した。2025 年には平均寿命は男性で 81 歳、女性で 88 歳、高齢化率は 30.5%で、5 人に 1 人が 75 歳以上の高齢者になることが推計されている<sup>1)</sup>。健康寿命の延伸を目指して生命の維持に欠かせない摂食嚥下機能と歯の長寿化の大切さが国民にも認識されるようになってきた。「健康日本 21」の目標値や「8020 運動」はそれを象徴するもので、高齢者における残存歯の増加をもたらす高齢者の QOL の向上に大きな貢献を果たしている。しかし、高齢化の進行により免疫力の低下した人、認知症患者、脳梗塞後遺症患者など十分な口腔ケアができず、口腔内衛生状態の悪化が問題となってきた。その結果、齲蝕と歯周病が進行し、歯の喪失という悪循環が生じる。また、口腔内衛生状態の悪化は口腔内の微生物の増加につながり、これは口腔内の感染症だけでなく、誤嚥性肺炎、循環器疾患、糖尿病といった全身疾患にも影響する<sup>1,2)</sup>。

そこで自然免疫の分子の一つである唾液中のディフェンシンに着目した。ディフェンシンは低分子の塩基性ペプチドで、強い殺菌作用を有している。ヒトでは 6 種類のディフェンシンと 2 種類のディフェンシンが知られており、細菌のみならず、真菌やウイルスに広域スペクトラムな抗菌効果を有していることから、口腔粘膜の感染防御機構として重要視されている。一般的に自然免疫で処理しきれない強さや量の微生物が侵入してくると炎症を引き起こすと考える。しかし、歯周ポケットが深いままでも長期にわたり安定している症例や、口腔

ケアが十分に行われておらずに口腔粘膜の炎症傾向があまりない症例が見受けられる。これは炎症性サイトカインと自然免疫での防御反応による安定が確保されているためと考えられるが、炎症傾向が認められる者との差異は明らかではない<sup>3)</sup>。本研究は、口腔内における微生物数とディフェンシンの関係を明らかにし、その結果をふまえた効果的な機能的口腔ケアを推奨することができ、口腔内の感染症のみならず全身の疾患予防につながると考える。

## 2. 研究の目的

本研究は、全身疾患や薬物などの影響を受けていない健常者における唾液中のディフェンシン量に影響を及ぼす因子について明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

対象は健常有歯顎者 22 名（男性 14 名、女性 8 名、平均年齢  $29 \pm 2$  歳）とした。実験開始 2 時間前より飲食・喫煙・口腔清掃を禁止した。吐出法による安静時唾液量の計測後、舌苔付着程度を算出した。採取した唾液 1 ml より唾液中 ディフェンシン量を ELISA 法にて測定した。総嫌気性菌数はブルセラ HK 寒天培地に唾液を滴下し、1 週間嫌気培養後 CFU 計測を行った。最終の口腔清掃からの経過時間、最終の食事からの経過時間、性別、喫煙習慣の調査は質問紙法で行った。唾液中 ディフェンシン量、総嫌気性菌数、安静時唾液量、舌苔付着程度を 50 パーセントイルで 2 値化後、唾液中 ディフェンシン量を目的変数、総嫌気性菌数、安静時唾液量、舌苔付着程度、最終の口腔清掃からの経過時間、最終の食

事からの経過時間、睡眠時間、性別、喫煙習慣を説明変数としたロジスティック回帰分析後、ステップワイズ法にて解析を行った ( $\alpha = 0.05$ )。

表1 調査した宿主因子

因子	調査法
安静時全唾液量	10分間吐出法
舌苔付着程度	Shimizuらの方法 <sup>4)</sup> にてTCI算出
唾液中総嫌気性菌数	ブルセラHK寒天培地に唾液を滴下し、1週間嫌気培養後にCFU計測
最終の口腔清掃からの経過時間	質問紙法
最終の食事からの経過時間	
睡眠時間	
性別(男性1, 女性0)	
喫煙習慣(あり1, なし0)	

#### 4. 研究成果

唾液中 ディフェンシン量と総嫌気性菌数や睡眠時間との間に正の相関関係が認められた(表2)。ロジスティック回帰分析では総嫌気性菌数が唾液中 ディフェンシン含有量に影響を及ぼす因子として選択された(表3)。

表2 唾液中 ディフェンシン含有量と各因子との相関関係

調査項目	Ave.	SD	$r_s$	$p$
安静時全唾液量 (ml/10min)	2.3	1.1	-0.385	0.077
舌苔付着程度(%)	21.9	13.3	-0.378	0.083
唾液中総嫌気性菌数 (CFU/ml)	$1.83 \times 10^7$	$4.06 \times 10^7$	0.514	0.014
最終の口腔清掃からの経過時間(h)	4.6	2.6	-0.197	0.379
最終の食事からの経過時間(h)	2.5	1.2	0.048	0.832
睡眠時間(h)	5.3	1.0	0.459	0.032
性別	男性14名 女性8名		0.137	0.543
喫煙習慣	あり11名 なし11名		0.177	0.430

表3 唾液中 ディフェンシン含有量に關する因子(因子を50パーセントイルにて)

	オッズ比	95%CI	P値
唾液中総嫌気性菌数	7.111	1.089-46.441	0.040

ディフェンシンは粘膜表面に分泌される初期防御に關連する抗菌ペプチドの一つであることから、口腔内細菌数の増加に伴う抗菌活性により ディフェンシン量が増加したと考える。また、睡眠時間について、睡眠中は交感神経の緊張がとれ副交感神経が働き、免疫細胞の働きが活性化することから、相関関係が認められた一因として考える。

今回調査した因子のうち唾液中 ディフェンシン含有量は、唾液中総嫌気性菌数に關係していることが明らかとなった。

#### <引用文献>

- Inglis, T.J.J., Sherratt, M.J., Sproat, L.J., Gibson, J.S., Hawkey, P.M. Gastrointestinal dysfunction and bacterial colonisation of the ventilated lung. Lancet.1993 ;341: 911-913
- Scannapieco FA, Papandonatos GD, Dunford RG. Associations between oral conditions and respiratory disease in a national sample survey population. Ann Periodontol. 3;251-256, 1998
- Dale BA, Periodontal epithelium : a new recognized role in health and disease. Periodontol 2000.30 ; 70-78, 2002
- Shimizu T, Ueda T, Sakurai K. New method for evaluation of tongue-coating status. J Oral Rehabil. 2007;34: 442-447

## 5 . 主な発表論文等

〔学会発表〕計2件)

大神浩一郎, 竜 正大, 内山 宙, 古池  
崇志, 戸村恭子, 上田貴之, 櫻井 薫  
口腔粘膜上皮における抗菌ペプチドデ  
ィフェンシンの発現に影響を与える因  
子の検討

日本老年歯科医学会第25回学術大  
会, 2014年6月13日, 福岡市

日本老年歯科医学会第25回学術大会  
プログラム・抄録集, 179, 2014

Ogami, K., Ryu, M., Uchiyama, H.,  
Koike, T., Tomura, K., Ueda, T.,  
Sakurai, K.

Investigation of Factors Affecting  
Expression of Antimicrobial Peptide  
Defensin on Oral Mucosal Epithelium  
Indonesian prosthodontic society  
and Japan Prosthodontic Society  
Joint Meeting, October 30th, 2014,  
Bali, Indonesia

Indonesian prosthodontic society  
and Japan Prosthodontic Society  
Joint Meeting Program: 67, 2014

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

大神 浩一郎 (OGAMI, Koichiro)

東京歯科大学・老年歯科補綴学講座・講師

研究者番号：40366175