

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：32667  
 研究種目：基盤研究(C) (一般)  
 研究期間：2017～2019  
 課題番号：17K11995  
 研究課題名(和文) 歯周病再発予防のための歯肉溝滲出液(GCF)検査法の開発

研究課題名(英文) Development of Periodontal Disease Detection Kit using GCF

## 研究代表者

沼部 幸博(Yukihiro, Numabe)

日本歯科大学・生命歯学部・教授

研究者番号：90198557

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)：本研究では、歯周病検査において歯肉溝滲出液(GCF)中のヘモグロビン(Hb)の探知が、従来からの歯周病検査である、PPDとBOPによる診断精度を、どのように高めるかを検索した。開発したGCF中Hb迅速診断キットを用い、病状安定(SPT)ステージの患者で検索したところ、Hbのカットオフ値以上のグループでは、PPD、BOPは正常でも炎症の生化学マーカーが有意に上昇していた。また3ヶ月後の経過では、ベースライン時のBOP(-)、Hb(+)部位では病態が悪化していた。これらの結果は迅速検出キットは歯周病の初期の病変(炎症)を探知しており、GCF中Hb検査の歯周病発症前診断での有用性が示唆された。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦の成人の7割以上が罹患している歯周病は、歯肉の炎症反応に伴う組織破壊がその病態として現れる。従来の歯周プローブ(探針)を用いる歯周病の検査方法は、歯周病の初期反応である微弱な炎症反応を探知する上では不向きであった。

そこで本研究では、歯肉の炎症に伴うGCF(歯肉溝滲出液)中に反映される潜血反応(ヘモグロビン反応)を簡便かつ迅速に評価できる検査キット(迅速診断キット)を用い、新たな歯周病の初期症状のチェアサイドでの検査方法を提示した。これは、歯周病の早期発見、早期診断を可能とし、歯周病の重傷化予防に繋がるものである。

研究成果の概要(英文)：This study investigated whether detection of hemoglobin (Hb) in gingival crevicular fluid (GCF) along with PPD and BOP would improve diagnostic accuracy. GCF was collected from the gingival sulcus of 152 teeth from 76 subjects of SPT stage. Clinical parameters of periodontal disease were recorded. Biochemical parameters included Hb amount, ALP activity and protein amount values in GCF. Moreover, cutoff values for Hb amount based on the amount of PD and BOP were created and analyzed.

Hb was detected in 64.8% of GCF samples in 105 BOP negative (-) sites in the periodontally stable group out of 107 sites that were less than all cutoff values. On the other hand, there were 71 BOP (-) sites in the periodontal management required group out of 122 sites that were more than all cutoff values, although no improvement in periodontal disease was observed. These results suggested that inspection of Hb derived from micro bleeding in gingival sulci may serve as an index for preclinical diagnosis.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯肉溝滲出液(GCF) 歯周組織検査 Hemoglobin 歯周病重症化予防 歯周病迅速診断キット

## 1. 研究開始当初の背景

本邦では歯周病が発症しているにもかかわらず、その自覚症状が明確でないために放置して重症化させているケースが多い。よって従来型の検査・診断・治療法に加え、より早期に歯周病の発症を探知する検査法を開発し、従来の検査結果に加え、新たな視点から得られる検査データから、患者に合わせた最適な治療を提供する方法を開発する必要がある。

特に初診における歯周病診断時ではなく、歯周病の治療が進んだ後の病状安定期における再発予防管理(SPT)では、比較的患者の来院間隔が長いことが多いため、来院時の検査には、今後の病変再発または進行のリスク判定(重傷化の危険性の予測)という歯周病診断の重要な項目を含める必要がある。

しかし従来の歯周病検査は、歯周組織破壊の結果や明確に進行中の病態の状況把握には優れるが、早期の病態変化の探知ができないため、それを補う歯周病発症・再発の比較的初期の兆候を探知可能な検査システム開発が急務であった。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、これまで申請者らの蓄積してきたGCFの基礎・臨床研究の経験や知識と申請者らの開発しているGCF中の潜血(遊離ヘモグロビン:Hb)を検知可能な歯周病迅速診断キットを用いて、歯周病の初期病変を探知する性能とその有用性を検証し、その応用による歯周病発症または再発の早期診断・早期治療技術を開発し、それを歯周病の重傷化予防繋げて行く方略をも構築することを目的とした。

本研究報告では、その中で本研究課題の研究成果として、最も特筆すべき3ヶ月追跡調査の内容を提示する。なお、この研究のすべての内容は投稿済みで、2020年6月4日にClinical Oral Investigationsに投稿、アクセプトされている(掲載予定日時は現段階で不明)。

## 3. 研究の方法

被験者は日本歯科大学附属病院来院の歯周病安定期治療(SPT)移行患者で、動的治療後3か月以上経過した非喫煙者、全身疾患を有さない、3か月以内の抗菌薬の服用がない、妊娠中・矯正治療中ではない、出血性素因のない患者とした。被験者数は51名、うち男性29名、女性22名、平均年齢 $56.1 \pm 13.9$ 歳であった(表1)。

- 日本歯科大学附属病院来院SPT移行患者
- 内分泌代謝疾患、悪性腫瘍、免疫疾患、肝疾患、腎不全、心臓疾患、骨代謝疾患を有さない患者
- 出血性素因のない患者
- 3か月以内に抗菌薬の服用のない患者
- 妊娠中もしくは避妊薬服用中でない患者
- 動的治療後3か月以上経過した非喫煙者
- 矯正治療中でない患者
- 男性:29名 女性:22名 合計:51名( $56.1 \pm 13.9$ )

被験歯のGCF採取部位に対し、以下の項目について臨床パラメータを記録

- Plaque index; PII (Silness & Loe; 1964)
- Gingival index; GI (Loe; 1967)
- Probing pocket depth; PPD (mm)
- Clinical attachment level; CAL (mm)
- Bleeding on probing; BOP

【倫理的配慮】  
日本歯科大学生命歯学部倫理委員会(No. NDU-T2017-12)、日本歯科大学臨床倫理委員会(NDUH-RINRIZ018-07)承認済みである。

表1 被験者の内訳

表2 臨床評価

被験歯は上下顎前歯部および単根歯、臨床症状は Probing pocket depth (PPD)  $\leq 4$  mm および BOP マイナスとし、全部鑄造冠装着歯、インプラントおよび義歯の鉤歯となっている歯については除外した。その内訳は上顎が中切歯 8 本、側切歯が 7 本、犬歯 25 本、下顎が中切歯 1 本、側切歯 3 本、犬歯 4 本、第一小臼歯 2 本、第二小臼歯 1 本であった。

被験歯の GCF 採取部位に対しては、各歯周病の臨床パラメータを記録した (表 2)。

研究デザインとしては、選択した 51 名の対象歯から採取した GCF に対して Immunochromatography (IC) 法を用いた GCF 中の潜血 (遊離ヘモグロビン:Hb) を検知する歯周病迅速診断キットを用い、Hb 陽性 (+)・陰性 (-) の判定を行った。そして BOP 陰性 (-) で Hb 陽性 (+) の群を試験群、BOP 陰性 (-) で Hb 陰性 (-) の群を対照群として設定した。

SPT 期間中、口腔清掃指導と PMTC のみを行い 3 年間の追跡調査を行った。その後、両群から得られた臨床パラメーターの比較検討を行った (図 1)。

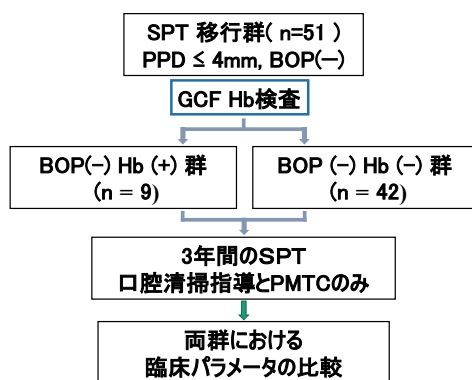
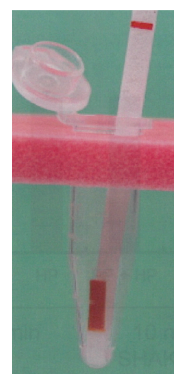
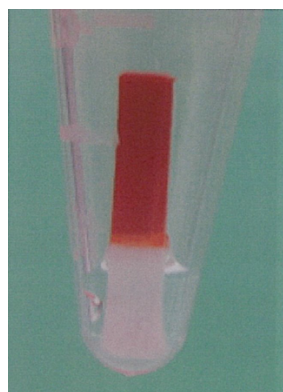


図 1 研究デザイン

図 2 GCF の採取

GCF 中の Hb 検出の手順は、

- (1) 被験歯の歯肉溝にペリオペーパーを挿入、30 秒間静置して GCF の採取を行う (図 2)。
- (2) マイクロピペット中の迅速診断用キット試薬にて 5 分間 GCF の抽出 (図 3)。
- (3) IC 法の歯周病迅速診断キットの濾紙を入れて反応させた後に評価。赤の判定ラインが現れると Hb 陽性 (+)、現れないと陰性 (-) と評価する (図 4)。



5~10分間静置

検体吸取部  
判定部  
検体浸透部

判定ライン

図 3 マイクロチューブの試薬に GCF 抽出

図 4 IC 法応用の歯周病迅速診断キットの評価

#### 4. 研究成果

##### BOP(-)Hb(+) n = 9

	PPD		BOP		PII		GI		CAL	
	BL	SPT 3年	BL	SPT 3年	BL	SPT 3年	BL	SPT 3年	BL	SPT 3年
mean	2.9	3.4	0.0	0.7	0.9	0.8	1.4	1.3	3.3	4.2
SD	1.1	1.7	0.0	0.5	0.6	0.4	0.5	0.9	1.3	1.6

##### BOP(-)Hb(-) n = 42

	PPD		BOP		PII		GI		CAL	
	BL	SPT 3年	BL	SPT 3年	BL	SPT 3年	BL	SPT 3年	BL	SPT 3年
mean	2.4	2.1	0.0	0.0	0.3	0.1	0.3	0.0	3.2	3.0
SD	1.1	0.8	0.0	0.0	0.5	0.4	0.5	0.2	1.9	1.7

表3 BOP (-) 部位における歯周病迅速診断キットによる Hb 判定結果の内訳  
黄色の部分は悪化した臨床パラメーターを示す。

上段が BOP (-) Hb (+) 群、下段が BOP (-) Hb (-) 群の歯周病の臨床パラメーターのベースラインから3年後の推移の結果を示す。

Hb (-) 群ではすべての臨床パラメーターが減少を示したが、Hb (+) 群では PPD がベースライン時で平均 2.9mm であったのが3年後には 3.4mm に、BOP はベースライン時 0 であったのが3年後に 0.7 に、CAL はベースライン時が 3.3mm であったのが3年後に 4.2mm へと、それぞれ増加した。また、GCF 中の炎症マーカーであるアルカリホスファターゼ (ALP) の値も BOP (-) Hb (+) 群で3年後に上昇していた (データ非提示)。

すなわち、Hb (-) 群と比較した時、Hb (+) 群では、BOP (-) であるものの SPT 移行3年後での病態悪化を示し、一方で Hb (+) 群と比較した時、Hb (-) 群では BOP (-) であり、他の臨床パラメーターの変化も少なく、SPT 移行3年後の予後が安定している事を示している。

歯周組織の炎症の有無を示す臨床パラメーターとして BOP が長年用いられているが、この検査はある程度病態が進行して炎症による組織破壊が進まないと陽性とならない欠点があり、炎症の初期症状を探知する事ができない。その点 GCF 中の Hb の評価は、その存在から組織における微弱な炎症変化を、炎症が拡大し病態が顕在化する前に探知する事が可能であり、今回使用した歯周病迅速診断キットはその点で有用であると考えられる。

以上より、本研究の結果は、SPT 期間中における歯周組織の病態悪化部位の予測を、歯周病迅速診断キットを用いて行える可能性の一つを提示するもので、GCF 中の Hb 測定は、歯周病の発症前診断に応用可能で、歯周病の重症化予防に繋がる新たな歯周組織の検査項目であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Asami Suzuki , Tetsuo Horie, Yukihiro Numabe	4. 巻 19
2. 論文標題 Investigation of molecular biomarker candidates for diagnosis and prognosis of chronic periodontitis by bioinformatics analysis of pooled microarray gene expression datasets in Gene Expression Omnibus (GEO),	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Oral Health	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12903-019-0738-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 沼部幸博	4. 巻 70
2. 論文標題 「メタボ」と「ペリオ」～多職種連携の共通言語を巡って～	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日歯医師会誌	6. 最初と最後の頁 19～28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 齋藤仁志, 伊藤 弘, 沼部幸博, 小川智久, 上原 直, 小玉美也子, 呉 亞欣
2. 発表標題 歯周病発症前診断に対するGCF ヘモグロビン測定の有用性
3. 学会等名 第62回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上原 直, 伊藤 弘, 小川智久, 川村浩樹, 鈴木麻美, 橋本修一, 沼部幸博
2. 発表標題 慢性歯周炎患者におけるGCF 中の骨型ALP と臨床パラメータとの関係
3. 学会等名 第61回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤 弘, 沼部幸博, 上原 直, 呉 亞欣, 橋本修一, 永田達也, 濱田 亮
2. 発表標題 歯周外科手術がSPT期の歯周組織検査におよぼす影響
3. 学会等名 第61回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤 弘, 橋本修一, 沼部幸博
2. 発表標題 歯肉溝滲出液 (GCF) におけるhemoglobin検査と歯周組織検査との比較
3. 学会等名 日本歯周病学会60周年記念大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 沼部幸博
2. 発表標題 唾液を歯周病診断にどう利用するか?
3. 学会等名 日本歯周病学会60周年記念京都大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤 弘, 沼部幸博, 橋本修一, 伊藤明子, 永田達也, 濱田 亮
2. 発表標題 BOP検査に歯肉溝滲出液 (GCF)のhemoglobin (Hb) 検査併用の有用性
3. 学会等名 2017年度秋季日本歯科保存学会学術大会 (第147回)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原 直, 伊藤 弘, 沼部 幸博, 小川 智久, 川村 弘樹, 鈴木 麻美, 橋本 修一
2. 発表標題 ポケットの分類による GCF酵素量の比較 ~生化学マーカーから見た病状安定~
3. 学会等名 第60回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原 直, 伊藤 弘, 沼部 幸博, 小川 智久, 川村 弘樹, 鈴木 麻美, 橋本 修一
2. 発表標題 ポケットの分類による GCF酵素量の比較 ~生化学マーカーから見た病状安定~
3. 学会等名 第60回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 沼部幸博, 石黒一美, 関野 愉, 村樫悦子, 田中昭男	4. 発行年 2018年
2. 出版社 永末書店	5. 総ページ数 239
3. 書名 歯科衛生士講座 歯周病学 第4版	

1. 著者名 沼部幸博, 齋藤 淳, 梅田 誠, 山本松男	4. 発行年 2018年
2. 出版社 永末書店	5. 総ページ数 297
3. 書名 ザ・ペリオドントロジー 第3版	

〔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
研究 分 担 者	伊藤 弘  (Ito Hiroshi)  (30184683)	日本歯科大学・生命歯学部・准教授     (32667)	