

機関番号：32667

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20592437

研究課題名 (和文) 能動喫煙および受動喫煙の口腔内生体防御機構に与える影響

研究課題名 (英文) Effects of Smoking and Passive Smoking in Oral Host Defense Functions.

研究代表者

沼部 幸博 (NUMABE YUKIHIRO)

日本歯科大学・生命歯学部・教授

研究者番号：90198557

研究成果の概要 (和文)： 健常者の喫煙者、受動喫煙者、非喫煙者のデータと、歯周病患者のデータとを統計学的に比較検討、唾液および歯肉溝滲出液の生化学成分および好中球の各機能変化が、喫煙状態、歯周病の病態とどのような関係があるかを調べた。その結果、歯周病に罹患している能動喫煙者、受動喫煙者で好中球能は低下し、唾液中の組織破壊由来の酵素活性が高い傾向が示された。このことは、喫煙の与える影響が歯周疾患罹患患者では高まっていることを示唆している。

研究成果の概要 (英文)： The present study focused on the relationship between cigarette smoking (first and second hand smoking) and changes of various oral host defense functions in healthy or periodontitis patients. These findings suggest that the effect of smoking was enhanced in periodontitis patients and substances in cigarette smoke could impair immunological functions (decreasing PMN functions and increasing enzyme activities which associated with tissue destruction) in the oral cavity in smokers or passive smokers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：歯周病学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：唾液、能動喫煙、受動喫煙、好中球

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 喫煙には喫煙者自身がたばこの煙 (主流煙) を吸う「能動喫煙」と、周囲の非喫煙者が喫煙者のたばこの煙 (副流煙) を吸う「受動喫煙」とがある。健康日本 21 の内容を受けて制定された健康

増進法では、喫煙者本人のみならず、受動喫煙者の健康被害を重視して、社会的に様々な対策が盛り込まれている。しかし、能動喫煙の全身の健康に及ぼす影響に関する研究報告は無数にあるが、受動喫煙に関してははまだ少ない。これは受動喫煙の研

究にはさまざまな研究デザインや倫理的な問題あることに他ならない。とくに、受動喫煙者を科学的に定義することが困難な背景があった。

(2) 近年、唾液、尿や血液中のニコチンの代謝産物であるコチニンを検索することで、非喫煙者のたばこの煙の被曝状況の把握が可能になり、非喫煙者の受動喫煙の状況を検索することが可能となってきた。そして、そのことが未成年や妊婦などに対する日常生活における環境改善の勧告の根拠となり、受動喫煙リスクの回避指導へもつながっている。

(3) 能動喫煙と歯周病の発症や進行との関連は明確になっており、同時に喫煙者の口腔内の特殊性も解っている。たとえば喫煙者の歯周病には、歯肉の炎症の強度はあまり強くないが、アタッチメントロスや歯槽骨吸収が進行するという臨床所見がある。

しかし受動喫煙の口腔への影響に関する知見はわずかで未解明な部分が多く、親が喫煙者の児童の歯肉のメラニン色素沈着傾向が高いこと、喫煙者周囲の非喫煙者で歯周病罹患の危険性が高まるとの報告があり、これらの原因は、能動喫煙および受動喫煙において、たばこの煙の中のニコチンや先に述べた代謝産物のコチニン、一酸化炭素などが歯肉や歯槽粘膜などに影響して、生体防御機構に傷害を与えていることが考えられる。

(4) 唾液や歯肉溝滲出液の成分には歯周組織の局所の状態を評価する様々な因子が含有されている。またその中の好中球も歯肉からの遊走過程で様々な情報を持っている。しかし、能動喫煙者および受動喫煙者の唾液成分変化に関しては未解明であった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、能動喫煙者と受動喫

煙者の口腔内環境変化を、(1) 生体防御に関与する好中球の各種の機能変化と、(2) 唾液、可能であれば歯肉溝滲出液中の炎症マーカーなどの生化学成分変化の両面から捉え、能動喫煙、受動喫煙が口腔組織の生体防御機構に与える影響を検索することにある。これらの研究における能動喫煙者および受動喫煙者の唾液検査などから、歯周病罹患の危険性などを探知するための多くの知見が得られるものとする。そして、これは今後さらに重要性を高めてゆく歯科医療における禁煙支援（指導）の際の貴重な情報ともなり得ると考えた。

## 3. 研究の方法

歯周組織が健康と診断された被験者を喫煙者、非喫煙者（後の唾液中コチニンの解析結果から受動喫煙者を判定する）に分け、全唾液および唾液好中球を採取し、それぞれ検査を行った。

具体的方法として、被験者は全身疾患を伴わず歯周病を有さない全身的に健康な者で、喫煙者と非喫煙者に分け、インフォームドコンセントを確立後、最初にアンケートにより喫煙歴や家族の喫煙状況などを含む生活習慣を聴取した。喫煙者に対しては、ニコチン依存度を評価する目的で、Fagerstöm のニコチン依存度テストを行い、そのスコアが4点以上であることを確認した。また、両被験者群とも呼気中の一酸化炭素 (CO) 濃度をマイクロスマーカーライザーにより2回測定し、その平均値を求めた。

次にガムの刺激により5分間全唾液を採取するとともに、唾液より好中球を分離採取した。その後唾液好中球の状態（生細胞率(アポトーシスを含む)、貪食能、貪食度)を検索した。

唾液中の生化学成分として CellProbe™ (Coulter, USA)を用い、エラスターゼ、コラゲナーゼ、カテプシン活性、そして活性酸素産生を検出した。

唾液中のコチニン量は検査業者(株式会

社 BML) に発注し調べた。これにより、喫煙者の喫煙程度および、非喫煙者として試料を採取した被験者の受動喫煙経験の有無を知ることができた。すなわち、唾液からある一定量のコチニンが検出された非喫煙の被験者を受動喫煙者、検出されなかったものを真の非喫煙者として定義した。受動喫煙者と判定された者には現状を速やかに本人に報告し、周囲の人間への禁煙誘導の必要性を説明した。

得られたデータを統計解析し喫煙者、受動喫煙者、非喫煙者の各細胞集団の状態を比較検討した。

これらの歯周組織が健常な喫煙者、受動喫煙者、非喫煙者の各データを解析し、次年度以降に行う歯周病有病者の検索に対する対照データとして定義した。

次に歯周病患者（軽度から中等度歯周炎）を対象に検索した。喫煙者と非喫煙者に分け、歯周病の病態を、各種臨床パラメーターの測定値として記録した。

また、口腔内の健常者と同様に唾液好中球機能の検索および唾液中の生化学成分を検索、歯周炎患者の喫煙者、受動喫煙者、非喫煙者におけるデータを採取した。

その後、能動喫煙、受動喫煙の有無、歯周病の病態と唾液成分および好中球機能の変化との関連を検索した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 結果

###### ①呼気中一酸化炭素濃度

喫煙者の呼気中の一酸化炭素 (CO) 濃度は非喫煙者群と比較して統計的に高く、約 40 倍の値を示した ( $p < 0.01$ )。

###### ②唾液中のコチニン検出

家族に喫煙者のいる非喫煙の被験者の唾液中にコチニンが検出され、それにより、受動喫煙の有無を評価することが出来た。

###### ③生細胞率

唾液中好中球の生細胞率は喫煙者群で

低い傾向があったが、統計的有意差は認められなかった。

###### ④食食能、食食度

食食率は口腔内健常喫煙者群で非喫煙者群と比較して有意に低下し、統計的有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。また食食度も喫煙者群で低い傾向があったが、統計的有意差は認められなかった。

###### ⑤細胞内酵素活性

エラスターゼ活性は、口腔内健常喫煙者群で平均蛍光強度が非喫煙者群と比較して低値を示し、統計的有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。この結果はコラゲナーゼ活性でも同様で、口腔内健常喫煙者群で平均蛍光強度が統計的に低値を示した ( $p < 0.05$ )。この酵素活性が低い傾向は、エラスターゼ活性において強かった。

しかしカテプシン活性では口腔内健常非喫煙者群、口腔内健常喫煙者群間の関係が逆転、口腔内健常喫煙者群で高い傾向を示したが、統計的有意差は認められなかった。

活性酸素産生に関与する酵素活性を示す DCF の蛍光強度も口腔内健常喫煙者群で高値を示し、統計的有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。

###### ⑥歯周疾患患者を加えた能動及び受動喫煙者における検索

口腔内健常者、歯周炎患者の好中球機能と酵素活性の比較から、歯周疾患に罹患している能動喫煙者、受動喫煙者では好中球機能は低下し、一部の唾液中の組織破壊由来の酵素活性が高い傾向が示された。

##### (2) 考察

これらのことから、喫煙が歯肉組織周囲での好中球機能の恒常性を失わせている可能性が示唆され、口腔組織および歯周組織の生体防御機能の低下に関与し、歯周病の発症や進行につながっている可能性が考えられた。

さらに、能動喫煙及び受動喫煙の与える影響が、口腔内に病態のない者よりも歯周疾患罹患患者で高まっている可能性がある。

## 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5件)

- ① 伊藤 弘、沼部幸博、歯肉溝滲出液中に反映される酸化型 $\alpha$ 1-antitrypsin 測定の有用性について、歯科人間ドック学会会誌、査読有、5巻、2010、5-11
- ② 伊藤 弘、沼部幸博、唾液中コチニン量測定による喫煙・受動喫煙検査の有用性 - GCFエラスターゼ活性を一指標として - 、日本歯周病学会会誌、査読有、44巻、2009、260-268
- ③ Suzuki A、Takai-Igarashi T、Numabe Y、Tanaka H Development of a database and ontology for pathogenic pathways in periodontitis、In Silico Biology、査読有、vol. 9、2009、233-243
- ④ Takeuchi H、Kubota S、Murakashi E、Fukada T、Hashimoto S、Takigawa M、Numabe Y、Effect of TGF- $\beta$  1 on CCN2/CTGF in human normal gingival fibroblasts and periodontal ligament cell、Journal of Periodontal Research 査読有、vol. 44、2009、161-169
- ⑤ 久野彰子、沼部幸博、介護老人福祉施設入居者における唾液中の歯周病関連細菌とその関連因子、老年歯科医学、査読有、23巻、2008、12-20

[学会発表] (計5件)

- ① Takeuchi H、Murakashi E、Kubota S、Tachibana M、Okabe M、Takigawa M、Numabe Y、Fibrogenic effect of nicotine from smoking on human periodontal tissue、The 96<sup>th</sup> Annual Meeting of American Academy of Periodontology in collaboration with the Japanese Society of Periodontology, November 1<sup>st</sup> 2010、Hawaii、USA
- ② 伊藤 弘、沼部幸博、喫煙および受動喫

煙が GCF エラスターゼ活性におよぼす影響 - とくにインヒビター・複合体との関連性について-、春季日本歯周病学会、5月14日、2009年、岩手

- ③ 伊藤 弘、沼部幸博、短期間禁煙が GCF エラスターゼ活性と唾液成分におよぼす影響 -、春季日本歯科保存学会、6月4日2009年、熊本
- ④ Takeuchi H、Murakashi E、Kubota S、Takigawa M、Numabe Y、Relationship between smoking and gingival fibrosis、12<sup>th</sup> International Academy of Periodontology、April 18 2009、Agra、India
- ⑤ Ito H、Numabe Y、The Smoking Effect on GCF Elastase Activity、The Fourth Sino-Japanese Conference on Stomatology、September 28 2008、Xi'an (西安)、China

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

沼部 幸博 (NUMABE YUKIHIRO)

日本歯科大学・生命歯学部・教授

研究者番号：90198557

### (2) 研究分担者

伊藤 弘 (ITO HIROSHI)

日本歯科大学・生命歯学部・准教授

研究者番号：30184683

鈴木 麻美 (SUZUKI ASAMI)

日本歯科大学・生命歯学部・助教

研究者番号：60318540

### (3) 連携研究者

なし