

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月10日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22592318

研究課題名（和文） 受動免疫療法のメンテナンス治療への応用

研究課題名（英文） The effects of passive immunization therapy on supportive periodontal therapy

研究代表者

菅野 直之（SUGANO NAOYUKI）

日本大学・歯学部・准教授

研究者番号：30246904

研究成果の概要（和文）：本研究は歯周治療における受動免疫療法の有用性を検討する目的で *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) の主要な病原因子であるジンジパインに対する鶏卵抗体をメンテナンス治療に併用し、口腔内の細菌叢をコントロールし、*P. gingivalis* を減少させることが可能であるか検証を行った。その結果、臨床症状に有意な変化は見られなかったが、唾液中の *P. gingivalis* は80%以上の減少が見られた。

研究成果の概要（英文）：Passive immunization using egg yolk antibody against periodontal pathogens (Gingipains) may be an effective way for the treatment of periodontitis. This study showed the possible effects of the biological oral flora control on periodontal maintenance therapy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：受動免疫 プラークコントロール 歯周病

### 1. 研究開始当初の背景

歯周病は歯周病原菌によって引き起こされる細菌感染症である。現在、歯周病に対する治療はブラッシングやスケーリング・ルートプレーニング等による機械的プラークコントロールが主体である。一方、薬剤を用いた化学的プラークコントロールも行われ、抗菌剤や抗生物質などが治療に用いられてきた。クロルヘキシジンは効果的な抗菌剤である

が本邦では副作用が報告されていることから口腔内で使用することはできない。また、抗生物質についても耐性菌の問題から長期間に及ぶ投与は行われていない。これら抗菌剤に代わる方法として、以前から免疫療法の研究開発が行われている。受動免疫療法は特異性および安全性が高いことが特徴であり、近年実用化された鶏卵抗体は、抗原に対する抗体の大量かつ安価な生産を可能とする受

動免疫療法の新たな選択肢である。グラム陰性偏性嫌気性菌である *P. gingivalis* は、歯周病の最も有力な原因菌であると考えられている。*P. gingivalis* の産生するジンジパインは、発育増殖に不可欠な因子であると同時に、宿主タンパクを広範に分解し宿主免疫機構の破綻をきたす重要な病原因子である。申請者は企業との共同研究により、ジンジパインに対する鶏卵抗体について *in vivo* および実際に口腔内で使用した際の効果と安全性を確認し、歯周治療への臨床応用を世界で初めて報告している。

## 2. 研究の目的

本研究は歯周治療における受動免疫療法の有用性を検討する目的で *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) の主要な病原因子であるジンジパインに対する鶏卵抗体をメンテナンス治療に併用し、口腔内の細菌叢をコントロールし、*P. gingivalis* を減少させることが可能であるか検証を行った。

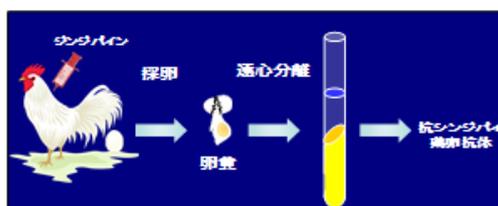
## 3. 研究の方法

(1) 研究の内容を説明し、同意を得る。

(2) 問診及び問診表、生活習慣アンケートにより、被験者の全身状態や既往歴、家族歴（アレルギーおよび口腔内に影響を与える可能性のある全身疾患）、生活習慣などを調査する。特に食物アレルギーについてはその有無を確認し、卵および乳製品に限らず一品目でも該当した場合には、研究を行わない。

(3) 試験スケジュール、毎食後あるいはブラッシング後、朝、昼、晩を目安に1回に1個ずつ、1日3個のタブレットを摂取する。タブレットは100 mgの抗ジンジパイン鶏卵抗体を含有する。プラセボタブレットには免疫していない鶏卵抗体を同量含むものとする。

抗ジンジパイン鶏卵抗体の作製



(4) 唾液はパラフィンガムを5分間咬んで、約5mlを滅菌したチューブに回収する。また、プラークは歯面から探針、スケーラーを用いて採取する(50mg程度)。試料からは通法に従いDNAの抽出を行い、細菌のDNA検出はリアルタイムPCR法を用い、*P. gingivalis* の菌数を定量する。

(5) プラーク付着の検査、ポケット深さ、プロービング時の出血の有無、歯肉退縮量の測定、口腔内写真撮影を行う。

(6) スクリーニング検査値をもとに、被験者を選別し、二群に割り付ける。試験群には抗ジンジパイン鶏卵抗体を含有するタブレットを、対照群には免疫していない鶏卵抗体を含有するプラセボを摂取させる。両群ともに摂取前に、ブラッシング指導、スケーリング・ルートプレーニングおよび機械的歯面清掃を含む一連のメンテナンス治療を行う。その後、1ならびに12週後に同様の検査を行う。

(7) 得られたデータを解析し、鶏卵抗体含有タブレットが、メンテナンス治療後の唾液やプラーク中の*P. gingivalis* の発現量や臨床症状の変化にどのような影響を与えているか検討する。

## 結果1

鶏卵抗体服用による臨床パラメータの変動

	摂取開始前	摂取開始後	減少率 (%)
最大ポケット深さ (mm)	5.30 ± 1.60	5.07 ± 2.17	4.63
平均ポケット深さ (mm)	2.34 ± 0.37	2.33 ± 0.31	0.23
PCR (%)	32.33 ± 18.83	25.16 ± 15.16	14.86
BOP (%)	8.91 ± 4.51	6.98 ± 4.56	0.07

## 結果2

鶏卵抗体服用による唾液中細菌数の変動

	摂取開始前	摂取開始後	減少率 (%)
総菌数 ( $\times 10^5/1ml$ )	756.22 ± 1814.43	70.32 ± 101.63 *	62.39
<i>P.gingivalis</i> 菌数 ( $\times 10^5/1ml$ )	53.93 ± 151.55	8.42 ± 18.70 *	83.10

#### 4. 研究成果

結果1に示すように、服用前後で臨床症状に有意な変化は見られなかったが、プラークの減少傾向が見られた。結果2に示すように、唾液中の総細菌数の減少が見られ、*P. gingivalis*については摂取前に比べ80%以上の減少が見られた。メンテナンス治療時の口腔内細菌叢のコントロールが、受動免疫療法により可能であることを示唆した。

これまでの研究においても、表1に示すように、鶏卵抗体含有タブレットを服用するだけでも、唾液中の*P. gingivalis*の割合は有意に減少することが示されているが、歯周ポケット内の細菌叢の変動は見られなかった。また、図2に示すように、歯周基本治療中に本タブレットを服用すると、歯肉縁下の*P. gingivalis*の減少につながることを示されており。受動免疫療法は機械的プラークコントロールと併用することにより更に効果を発揮し、臨床症状の改善や口腔内細菌叢のコントロールにつながるものと考えられる。

表1 鶏卵抗体含有タブレット服用のみによる唾液中細菌数の変動

		総菌数 ( $\times 10^4 \pm 10 \mu$ )	<i>P.gingivalis</i> 数 ( $\times 10^4 \pm 10 \mu$ )	<i>P.gingivalis</i> 比率 (%)
テスト群 n=11	Baseline	91.9 $\pm$ 22.1	130.3 $\pm$ 253.7	0.33 $\pm$ 0.69
	8 weeks	167.7 $\pm$ 88.5	68.1 $\pm$ 122.3	0.05 $\pm$ 0.09
プラセボ群 n=12	Baseline	70.6 $\pm$ 33.7	70.1 $\pm$ 126.2	0.17 $\pm$ 0.35
	8 weeks	137.8 $\pm$ 96.0	51.1 $\pm$ 78.6	0.09 $\pm$ 0.19

\*  $p < 0.05$

表2 スケーリング後にタブレット服用 (歯肉縁下プラーク)

		総菌数 ( $\times 10^4 \pm 10 \mu$ )	<i>P.gingivalis</i> 数 ( $\times 10^4 \pm 10 \mu$ )
テスト群 n=18	Baseline	10.5 $\pm$ 10.8	2.8 $\pm$ 6.6
	12 weeks	8.3 $\pm$ 1.1	0.2 $\pm$ 0.4
プラセボ群 n=16	Baseline	6.4 $\pm$ 6.6	0.6 $\pm$ 0.6
	12 weeks	7.7 $\pm$ 7.4	0.7 $\pm$ 1.8

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計7件)

① Sugano N, Biological plaque control: novel therapeutic approach to periodontal disease, J Oral Sci, 査読有, 54, 1-5, 2012

② Takano M, Sugano N, Mochizuki S, Koshi RN, Narukawa TS, Sawamoto Y, Ito K. Hepatocytes produce tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 in response to *Porphyromonas gingivalis*. J Periodontal Res, 査読有, 47, 89-94, 2012

③ Kawamoto A, Sugano N, Motohashi M, Matsumoto S, Ito K. Relationship between salivary antioxidant capacity and phases of the menstrual cycle. J Periodontal Res, 査読有, 47, 593-598, 2012

④ Nakao R, Takigawa S, Sugano N, Koshi R, Ito K, Watanabe H, Senpuku H. Impact of minocycline ointment for periodontal treatment of oral bacteria. Jpn J Infect Dis, 査読有, 64, 156-160, 2011

⑤ Kawamoto A, Sugano N, Motohashi M, Matsumoto S, Ito K. Relationship between Oral Malodor and the Menstrual Cycle. J Periodontal Res, 査読有, 45, 681-687, 2010

⑥ Takano M, Nishihara R, Sugano N, Matsumoto K, Yamada Y, Takane M, Fujisaki Y, Ito K. The effect of systemic anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  treatment on *Porphyromonas gingivalis* infection in type 2 diabetic mice. Arch. Oral Bio, 査読有, 55, 379-384, 2010

⑦ Iwano Y, Sugano N, Matsumoto K, Nishihara R, Iizuka T, Yoshinuma N, Ito K. Salivary microbial levels in relation to periodontal status and caries development. J Periodontal Res, 査読有, 45, 165-169, 2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菅野 直之 (SUGANO NAOYUKI)

日本大学・歯学部・准教授

研究者番号：30246904