研究者：竹内　　晋（所属：東京医科歯科大学大学院健康推進歯学分野）

研究題目：洗口吐出液の濁度を応用した口腔保健状況の評価法の開発

目　的：

濁度はこれまで水質検査の際に使用されてきた指標であり，水の濁りの程度を表すものである。進行したう蝕や歯周病を有する者，口腔衛生状態が不良の者，唾液分泌量低下のために口腔の自浄作用が低下した者では，洗口吐出液の濁度が高くなると推察される。したがって，濁度計を用いて洗口吐出液の濁度の評価を行うことで，より客観的な口腔衛生状態の評価が可能になると考えられる。

本研究の目的は洗口吐出液の濁度と口腔衛生状態，う蝕，歯周疾患，唾液流量および口腔内細菌数等の口腔保健状況との関連を調査し，洗口吐出液の濁度の評価が新しい口腔保健状況の指標となりうるか検討することである。

対象および方法：

対象は，東京医科歯科大学歯学部附属病院息さわやか外来を受診した患者のうち，研究の趣旨・内容について十分な説明を行い，参加に同意を得た 182 名である。その中で，データに欠損のある者および無歯顎者を除外した 165 名（男性 47 名，女性 118 名，平均年齢 49.3 ± 14.1 歳）を分析の対象とした。

蒸留水 20 mL を使用して，対象者に口腔内で左右に 10 往復含嗽させた後，紙コップに吐き出させたものを洗口吐出液として使用した。洗口吐出液の濁度の測定は，濁度計 WA1（日本電色工業）を用いて行った。残りの吐出液 3 mL をマイクロピペットにてチューブに移し，細菌数の測定に用いた。

洗口吐出液中の細菌数の測定は Real-time PCR 法により行い，*Fusobacterium* 属，*Porphyromonas gingivalis*，*Tannerella forsythia*，*Treponema denticola* 特異的なプローブを用いることで，これらの供試菌および総細菌数の定量を行った。解析は Opticon Monitor ver 3.1（Bio-Rad）を用い，別に調製した標準菌株の DNA を用い得られた Ct 値から検量線を作成し，菌数を算出した。なお，総菌数の定量には *P. gingivalis* の DNA を標準化に用いた。

口腔内診査は歯の状態（現在歯数，未処置歯数），歯周組織の状態，歯の清掃状態（Plaque Index），舌の清掃状態（舌苔の厚さ）を評価した。また安静時唾液量の測定を行った。

基本統計量として測定値の平均値および標準偏差を算出した。洗口吐出液の濁度および細菌数は正規分布を示さなかったため，対数変換後分析を行った。測定値間の相関は，ピアソンの相関係数を用いた。また，洗口吐出液の濁度を従属変数とし，性別，年齢，口腔保健状況および口腔細菌数を独立変数として多変量線形回帰分析を行い，濁度に影響を及ぼす因子の検討を行った。集計および統計学的解析は SPSS15.0 を用い，有意水準は $p < 0.05$ とした。

結果および考察：

1）洗口吐出液の濁度

洗口吐出液の濁度の平均値は 116.9 ± 95.3 であった。男性（131.3 ± 101.6）が女性（111.2 ± 92.5）より高かったが，有意な差は認められなかった。

2）洗口吐出液中の細菌数

Fusobacterium 属，*P. gingivalis*，*T. forsythia*，*T. denticola* および総細菌数の平均値（CFU/mL）はそれぞれ $8.5 \times 10^5 \pm 1.1 \times 10^6$，$6.1 \times 10^4 \pm 2.4 \times 10^5$，$1.5 \times 10^5 \pm 2.6 \times 10^5$，$1.8 \times 10^5 \pm 4.8 \times 10^5$，$1.4 \times 10^8 \pm 1.3 \times 10^8$ であった。男性は女性より *T. denticola* 菌数が有意に多かった（$p < 0.05$）が，その他の菌は男女間に有意な差は認められなかった（表 1）。

3）口腔保健状況

現在歯数，未処置歯数，4 mm 以上の歯周ポケットを有する歯数およびプロービング後に出血がみられた歯数はそれぞれ 25.9 ± 4.5 歯，0.2 ± 0.8 歯，1.3 ± 2.6 歯，4.0 ± 4.9 歯であった。男性（27.0 ± 3.9 歯）は女性（25.5 ± 4.7 歯）より現在歯数が有意に多かった（$p < 0.05$）。

Plaque Index の平均値は，男性（0.7 ± 0.6）が女性より（0.5 ± 0.4）高かったが，有意な差は認められなかった。舌苔の厚さはスコア 0 が 1.8%，スコア 1 が 49.1%，スコア 2 が 38.8%，スコア 3 が 10.3%であった。男性（1.83 ± 0.76）は女性（1.47 ± 0.65）より舌苔の平均スコアが有意に高かった（$p < 0.01$）。平均安静時唾液流量は男性（0.5 ± 0.4 mL）が女性（0.3 ± 0.2 mL）より有意に多かった（$p < 0.01$）（表 1）。

4）洗口吐出液の濁度と口腔保健状況との関連

洗口吐出液の濁度と有意な相関が認められたのは未処置歯数（r = 0.16），歯周ポケット 4 mm 以上の歯数（r = 0.19），Plaque Index（r = 0.22），舌苔の厚さ（r = 0.23），*Fusobacterium* 属（r = 0.66），*T. forsythia*（r = 0.35），*T. denticola*（r = 0.27），*P. gingivalis*（r = 0.16）および総菌数（r = 0.84）であった（表 2）。

表 1　対象者の口腔保健状況

Parameters		Total（n = 165） Mean ± SD	Males（n = 47） Mean ± SD	Females（n = 118） Mean ± SD	*P value*
Teeth present		25.9 ± 4.5	27.0 ± 3.9	25.5 ± 4.7	0.045
DT		0.2 ± 0.8	0.2 ± 0.5	0.2 ± 0.9	0.925
Periodontal pocket ≥ 4mm		1.3 ± 2.6	2.1 ± 3.9	1.0 ± 1.8	0.067
Bleeding		4.0 ± 4.9	4.2 ± 4.3	4.0 ± 5.1	0.774
Plaque Index		0.5 ± 0.5	0.7 ± 0.6	0.5 ± 0.4	0.051
Tongue coating		1.6 ± 0.7	1.8 ± 0.8	1.5 ± 0.7	0.003
Flow rate of saliva	（mL/min）	0.3 ± 0.3	0.5 ± 0.4	0.3 ± 0.2	0.006
Bacterium					
Fusobacterium spp.	（CFU/mL）	$8.5 \times 10^5 \pm 1.1 \times 10^6$	$1.1 \times 10^6 \pm 1.5 \times 10^6$	$7.3 \times 10^5 \pm 9.0 \times 10^5$	0.084
Porphyromonas gingivalis	（CFU/mL）	$6.1 \times 10^4 \pm 2.4 \times 10^5$	$6.5 \times 10^4 \pm 2.5 \times 10^5$	$6.0 \times 10^4 \pm 2.4 \times 10^5$	0.893
Tannerella forsythia	（CFU/mL）	$1.5 \times 10^5 \pm 2.6 \times 10^5$	$2.0 \times 10^5 \pm 3.1 \times 10^5$	$1.3 \times 10^5 \pm 2.4 \times 10^5$	0.169
Treponema denticola	（CFU/mL）	$1.8 \times 10^5 \pm 4.8 \times 10^5$	$3.7 \times 10^5 \pm 8.3 \times 10^5$	$1.1 \times 10^5 \pm 1.9 \times 10^5$	0.039
Total bacteria	（CFU/mL）	$1.4 \times 10^8 \pm 1.3 \times 10^8$	$1.7 \times 10^8 \pm 1.5 \times 10^8$	$1.3 \times 10^8 \pm 1.3 \times 10^8$	0.039

5）多変量線形回帰分析

多変量線形回帰分析の結果，濁度と有意な関連が認められたのは安静時唾液量および総細菌数であった（$p < 0.01$）。安静時唾液量が少なくなるほど，また総細菌数が増えるほど濁度が高くなる傾向が認められた。その他の項目では有意な関連は認められなかった（表 3）。

本研究により，洗口吐出液の濁度には総細菌数と唾液流量が関連していることが明らかになった。総細菌数が多いと洗口吐出液の濁度が高いという結果は，濁度の測定により口腔内細菌数が予測可能であることを示唆している。このことにより，例えば，洗口吐出液の濁度の三分位をもとに，口腔内細菌数のスクリーニングを行って，濁度が 60 以下：青（問題なし），61–130：黄（要注意），131 以上：赤（要介入）などと分類できる可能性が示唆された。

また，洗口吐出液の濁度は唾液流量との関連も認められ，唾液流量が少ないと洗口吐出液の濁度は高くなることが明らかになった。本研究により認められた洗口吐出液の濁度と唾液流量との関連は，唾液流量が減少することで唾液の抗菌作用，凝集作用，自浄作用等が低下し，その結果，口腔衛生状態が悪化したことが原因ではないかと推測された。すなわち口腔衛生状態の悪化が，洗口吐出液の濁度に反映されていると考えられた。

洗口吐出液の濁度は *Fusobacterium* 属，*P. gingivalis*，*T. forsythia*，*T. denticola* と有意な相関が認められた。中でも *Fusobacterium* 属は，洗口吐出液の濁度と強い正の相関を示した。*P. gingivalis*，*T. forsythia* および *T. denticola* は，いずれも慢性歯周炎の主要な病原菌である。洗口吐出液の濁度とこれらの細菌との間には弱い相関しか認められなかった。これは *Fusobacterium* 属が対象者全員から検出されたのに対し，*P. gingivalis* が検出されたのは 40 名（約 25%），*T. forsythia* は 145 名（約 88%），*T. denticola* は 115 名（約 70%）と，検出されない者がいたことも原因の一つと考えられた。また，これら 3 種類の細菌は主に歯周ポケット内に存在し，洗口では検出されにくいことや，対象者に重度の歯周疾患有病者が少なかったことも原因として考えられた。

表 2　洗口吐出液の濁度と口腔保健状況および細菌数の相関

	r	P value
Teeth present	−0.12	0.135
DT	0.16	0.036
Periodontal pocket ≥ 4 mm	0.19	0.016
Bleeding	0.01	0.944
Plaque Index	0.22	0.002
Tongue coating	0.23	0.004
Flow rate of saliva	−0.09	0.238
Bacteria		
Fusobacterium spp.	0.66	< 0.001
Porphyromonas gingivalis	0.16	0.044
Tannerella forsythia	0.35	< 0.001
Treponema denticola	0.27	< 0.001
Total bacteria	0.84	< 0.001

表 3　洗口吐出液の濁度の多変量線形回帰分析

	B	t	P value
Gender	−0.01	−0.30	0.76
Age	0.07	1.29	0.20
Teeth present	0.03	0.55	0.59
DT	0.01	0.21	0.83
Periodontal pocket ≥ 4 mm	0.00	0.04	0.97
Bleeding	0.02	0.47	0.64
Plaque Index	0.07	1.33	0.18
Tongue coating	−0.02	−0.34	0.73
Flow rate of saliva	−0.14	−3.24	< 0.001
Total bacteria	0.82	17.65	< 0.001

本研究では *Streptococcus mutans* 等のう蝕原因細菌の測定は行っていない。これらの細菌も濁度に影響を与えることが考えられるので，今後，検討することが必要であろう。また，対象者が歯科大学病院の患者であり，一般の人を対象としたフィールド調査等も必要であろう。

本研究により，洗口吐出液の濁度は唾液流量等の口腔保健状況や口腔内の細菌数を反映していることが示唆された。洗口吐出液の濁度は，濁度計を用いて容易にまた迅速に測定できる方法であることから，今後，診療室でのチェアサイドやフィールド調査において口腔保健状況を評価するスクリーニング指標として応用できる可能性が示唆された。

成果発表：（予定を含めて口頭発表，学術雑誌など）

Takeuchi S, Ueno M, Takehara S, Pham TAV, Hakuta C, Morishima S, Shinada K & Kawaguchi Y

The relationship between turbidity of mouth-rinsed water and oral health status

Acta Odontologica Scandinavica, オンライン版公開　http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/00016357.2011.654258