原 著 論 文

尿試験紙による唾液 8 成分の同時測定法の構築と残存歯の歯周病の評価

結城 健二 塚崎 弘明 川和 忠治 芝 燐彦 芝 紀代子*

Establishment of Simultaneous Measurement Method of 8 Salivary Components using Urinary Test Paper and Clinical Evaluation of Oral Environment

Yuuki Kenji, Tsukasaki Hiroaki, Kawawa Tadaharu, Shiba Akihiko and Shiba Kiyoko*

歯科補綴学的意義

血液に比較し、非侵襲的に採取可能な全唾液を採取し、尿一般検査で用いられている試験紙と機器を応用して、唾液中成分 8 項目の同時測定がチェアサイドで可能となれば、補綴装置を装着した患者自身に、唾液の検査値を通して残存歯における歯周病の罹患状態を把握させ、理解させることができ、残存歯、特に支台歯の予後の診断・治療を進めていくうえで極めて有意義である。

抄 録

目的：歯周組織の臨床所見と全唾液中に含まれるグルコース、タンパク質、アルブミン、ビリルビン、クレアチニン、pH、潜血、ケトン体、亜硝酸塩、白血球との相関関係について比較検討した。

方法：医局員ならびに歯科治療に訪れた患者計 57 名を対象者とした。唾液採取は 1 回目として、蒸留水 1.5 ml を 15 秒間口腔内で含嗽させ、紙コップに吐き出させる。2 回目として、蒸留水 1.5 ml を 15 秒間含嗽させ、紙コップに吐き出させる。3 回目として、パラフィンガムを 60 秒間咀嚼させ、紙コップに吐き出させる。このように 3 回に分けて全唾液の採取を行った。測定法は、尿試験紙に貼り付けられた 10 項目の試薬片に、サンプルを 8 μ l 滴下し、専用反射率計で計測した。歯周組織状態の判定は、歯槽骨の吸収・プロービング値・動揺度・根分岐部病変を診査し、4 ランクに分類した。得られた歯周病ランク別の平均値、各成分との相関をそれぞれ統計処理した。

結果：ビリルビン、ケトン体は測定できなかった。8 項目の成分濃度の平均値は、歯周病ランクが高くなるに伴って平均値も高値を示した。歯周病ランクと各成分の相関をみたところ、タンパク質、アルブミン、クレアチニン、pH、白血球で相関が得られた。

結論：試験紙による唾液 8 成分の同時測定法は、支台歯および残存歯の歯周病診断に有用であることが示唆された。

和文キーワード

唾液、歯周病、唾液検査、支台歯

昭和大学歯学部歯科補綴学教室（主任：川和 忠治）

*東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科（主任：芝 紀代子）

Department of Prosthodontics, Showa University School of Dentistry

*Graduate School of Health Sciences, Tokyo Medical and Dental University

受付：2006 年 2 月 10 日／受理：2008 年 4 月 6 日

Received on February 10, 2006/Accepted on April 6, 2008

I. 緒 言

近年の高齢者の増加に伴い、義歯装着者の人口が増加してきている。義歯の装着は口腔内の衛生環境を悪化させることから、う蝕や歯周病に罹患する頻度を上昇させている。唾液はその口腔内環境を予防し、口腔内粘膜の保護^{1,2)}を受け持ち、さらに咬合、咀嚼、嚥下、発音機能を円滑に行わせると同時に、義歯の維持安定にも寄与している³⁾。また唾液は血液中成分を多く含んでおり、歯肉溝滲出液、白血球、バクテリア、粘膜上皮細胞などと合体して口腔内の疾病状態を反映している⁴⁾。この唾液中成分を検査して、歯周組織の状態を知ることができれば、部分床義歯を装着した患者の残存歯、特に支台歯の予後の診断を行う上で極めて有意義である。しかし唾液は血液と比較して含有タンパク質の量が非常に少ないことから、唾液中の成分分析が困難なため、今日まであまり広く臨床応用がされていないのが現状である。当教室ではこれまで歯肉の炎症と歯肉溝滲出液中の乳酸脱水素酵素、アルカリホスファターゼと β グルクロニターゼ活性が正の相関関係を示すこと⁵⁾、唾液中のラクトフェリン濃度とプロービング値が正の相関を示すこと⁶⁾、部分床義歯の支台歯の歯周病診断には全唾液中のアルブミン量が有用であること⁷⁾を報告してきた。

そこで今回は、部分床義歯装着後の残存歯の歯周病診断の指標として臨床応用することを目的として、非侵襲で採取できる全唾液を採取し、尿一般検査で用いられている試験紙と機器を用い、まず健常者の唾液中成分10項目の測定が可能かどうかについて基礎的検討を行った。その後、その項目について残存歯の歯周組織状態の臨床所見と全唾液に含まれるそれらの成分との相関関係の有無について比較検討したので報告する。

II. 材料と方法

1. 実験材料

被験者は、昭和大学歯学部歯科補綴学教室医局員ならびに、歯科治療に訪れた来院患者で本研究の主旨を十分に理解し、協力に同意を得られた男性30名(年齢24~73歳)、女性27名(年齢21~72歳)、計

57名を対象とした。なお本研究は昭和大学歯学部医の倫理委員会の承諾を得た上で行った。

2. 全唾液の採取

まず唾液採取1回目として、被験者に滅菌された蒸留水1.5 mlを15秒間口腔内で含嗽させ、紙コップに吐き出させる。以後、この方法による唾液採取法を「1回目」とする。その30秒後、唾液採取2回目として、もう一度蒸留水1.5 mlを15秒間口腔内で含嗽させ、紙コップに吐き出させる。以後、この方法による唾液採取法を「2回目」とする。その60秒後、唾液採取3回目として、唾液採取用シリコンガム(Ora Sure 製)1個を60秒間咀嚼させ、紙コップに吐き出させる。以後、この方法による唾液採取法を「3回目」とする。このように3回に分けて全唾液の採取を行った。

3. 歯周組織状態の判定

唾液の採取後、残存歯の歯槽骨の吸収の程度・プロービング値(歯肉溝の深さ、歯周ポケットの深さ:PD)・歯の動揺度・根分岐部病変の有無を診査し、P0~P3までの4ランクに分類し、歯周組織状態の評価を行った。P0は歯槽骨の吸収がほとんど認められず、歯周ポケットが2 mm以下、歯の動揺度が0~1度、根分岐部病変が認められない歯周組織状態、P1は歯槽骨の吸収が歯根長の1/3以下、歯周ポケットが3~5 mm、歯の動揺度が0~1度、根分岐部病変が認められない歯周組織状態、P2は歯槽骨の吸収が歯根長の1/3~1/2、歯周ポケットが4~7 mm、歯の動揺度が1~2度、根分岐部病変が1度の歯周組織状態、P3は歯槽骨の吸収が歯根長の1/2以上、歯周ポケットが6 mm以上、歯の動揺度が2~3度、根分岐部病変が2~3度の歯周組織状態とした。歯槽骨の吸収の程度、根分岐部病変の有無の審査には、パノラマエックス線写真を用い、プロービング値の計測は6点計測法を用いた。

4. 全唾液中成分の測定

全唾液中成分の測定項目は、グルコース、タンパク質、アルブミン、ビリルビン、クレアチニン、pH、潜血、ケトン体、亜硝酸塩、白血球の10項目とした。測定方法は、尿成分の一般検査に用いられている尿試験紙(オーシヨンスティックス、アークレイ(株))

図1 Specific reflectometer and urinary test paper
専用反射率測定器と尿試験紙

表1 Measurement wavelength of each measurement items
各測定項目の測定波長

Measurement items	Measurement wavelength (nm)	Reference wavelength (nm)
Glucose	635	760
Protein	635	760
Albumin	565	760
Bilirubin	565	760
Creatinine	635	760
pH	565	760
BLD	635	=
KET	565	760
NIT	635	760
LEU	565	760

BLD: Occult blood, KET: Ketone body, NIT: Nitrite, LEU: Leukocyte

に貼り付けられた測定対象成分 10 項目の試薬片に、採取直後の唾液サンプルをそれぞれ 8 μ l 滴下し、よく浸透させ、室温で 60 秒間反応させた後に、専用反射率計 [Pocketchem UA, アークレイ (株)] で反射率を計測した (図 1)。その測定方法の原理は 2 波長反射測光法であり、測光部ではマルチ LED から 2 波長の光が試験紙の反応部に照射され、その反射光を検出器で受光する方法である (表 1)。処理能力は 1 時間 50 テストである。

次に、各項目について反射率から検量線を作成し、濃度換算するが、そのときの対象となる定量法は、グルコースは GOD 電極法、タンパク質はピロガロールレッド法、アルブミンは免疫比濁法、ビリルビンは柴田変法、クレアチニンは酵素法、pH は pH 電極法、潜血、ケトン体、亜硝酸塩は添加した標準物質から濃度を算出、白血球は Fuchs-Rosenthal 計算盤を用いた。

5. 統計学的解析

残存歯の歯周病ランクと全唾液中成分中測定可能であった 8 項目 (グルコース、タンパク質、アルブミン、

表2 Measurable range of urinary test paper
試験紙の感度

Items	Measurable range
Glucose	0 ~ 1,000 mg/dl
Protein	0 ~ 300 mg/dl
Albumin	0 ~ 20 mg/dl
Bilirubin	0 ~ 10 mg/dl
Creatinine	0 ~ 300 mg/dl
pH	5 ~ 9 -
BLD	0 ~ 1 mg/dl
KET	0 ~ 50 mg/dl
NIT	0 ~ 2 mg/dl
LEU	0 ~ 250 leu/ul

BLD: Occult blood, KET: Ketone body, NIT: Nitrite, LEU: Leukocyte

クレアチニン、潜血、pH、亜硝酸塩、白血球) の濃度について一元配置分散分析法を行い、有意な差があったものに関してはその後、Scheffe 法を行った。また、歯周病ランクと全唾液中成分 8 項目の濃度との相関関係をスピアマンの順位相関係数を用いて統計処理を行った。 $p \leq 0.05$ を有意差ありとした。

III. 結 果

1. 健常者の全唾液中成分の測定条件

蒸留水 1.5 ml を 15 秒間口腔内で含嗽させ、紙コップに吐き出させる採唾法では、唾液サンプルが速やかに試験紙に浸透し、尿試験紙 10 項目を 60 秒間で簡便に測定することができた。

同じ歯周病ランクであっても、全唾液採取 1 回目、2 回目、3 回目の唾液中成分の測定結果において差が認められた。

2. 試験紙の感度

各唾液サンプルを試験紙に浸透させ専用反射率計で反射率を測定した結果、試験紙の 10 項目のうち 8 項目、即ちグルコース、タンパク質、アルブミン、クレアチニン、pH、潜血、亜硝酸塩、白血球 (エラスターゼ活性) は測定可能であった。しかしながら、ビリルビン、ケトン体の 2 項目は唾液中に微量にしか存在しないため、2 項目ともどの検体も全く発色しなかったため測定項目から除外した (表 2)。

表3 The mean values in each periodontal disease rank
歯周ランク別の平均値

Rank	Cases	The 1st time (mg/dl)	The 2nd time (mg/dl)	The 3rd time (mg/dl)
Glucose				
P0	21	2.69 ± 1.81	2.85 ± 2.24	3.47 ± 1.99
P1	8	2.29 ± 1.44	2.95 ± 1.98	2.95 ± 2.07
P2	12	7.94 ± 7.71	7.59 ± 6.22	5.82 ± 4.12
P3	16	5.10 ± 6.16	4.77 ± 2.18	4.43 ± 2.38
Protein				
P0	21	21.29 ± 19.46	13.55 ± 8.59	34.67 ± 23.38
P1	8	30.43 ± 28.41	38.41 ± 27.27	60.15 ± 42.30
P2	12	67.59 ± 45.72	64.25 ± 58.32	81.29 ± 45.11
P3	16	51.14 ± 20.61	33.17 ± 23.76	65.58 ± 42.37
Albumin				
P0	21	33.87 ± 19.50	27.81 ± 20.55	91.77 ± 69.86
P1	8	86.04 ± 106.77	96.07 ± 76.37	191.72 ± 136.28
P2	12	164.70 ± 114.04	172.68 ± 154.29	222.59 ± 123.97
P3	16	178.39 ± 74.31	105.84 ± 100.25	210.94 ± 128.49
Creatinine				
P0	21	15.93 ± 3.89	12.55 ± 5.99	20.38 ± 11.94
P1	8	31.55 ± 18.64	27.57 ± 10.02	50.03 ± 31.78
P2	12	33.44 ± 20.20	37.29 ± 28.23	39.51 ± 20.33
P3	16	43.19 ± 24.05	29.10 ± 20.82	50.77 ± 30.75
pH				
P0	21	5.48 ± 0.10	5.50 ± 0.22	5.83 ± 0.54
P1	8	5.54 ± 0.10	5.77 ± 0.45	6.21 ± 0.69
P2	12	5.71 ± 0.45	5.73 ± 0.49	6.12 ± 0.62
P3	16	5.81 ± 0.49	5.51 ± 0.10	6.53 ± 0.69
BLD				
P0	21	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00
P1	8	0.24 ± 0.33	0.20 ± 0.24	0.25 ± 0.30
P2	12	0.30 ± 0.28	0.30 ± 0.33	0.47 ± 0.39
P3	16	0.42 ± 0.39	0.29 ± 0.28	0.41 ± 0.41
NIT				
P0	21	0.35 ± 0.22	0.38 ± 0.24	0.39 ± 0.33
P1	8	0.39 ± 0.47	0.62 ± 0.55	0.58 ± 0.44
P2	12	0.69 ± 0.57	0.54 ± 0.39	1.01 ± 0.79
P3	16	0.80 ± 0.50	0.64 ± 0.41	1.12 ± 0.65
LEU				
P0	21	169 ± 232	299 ± 303	262 ± 267
P1	8	577 ± 386	852 ± 328	927 ± 383
P2	12	638 ± 433	748 ± 555	812 ± 400
P3	16	785 ± 583	830 ± 576	834 ± 532

BLD: Occult blood, KET: Ketone body, NIT: Nitrite, LEU: Leukocyte

*** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

3. 残存歯の歯周病ランク別にみた唾液中成分濃度
残存歯の歯周病ランクと全唾液中成分中測定可能である8項目（グルコース、タンパク質、アルブミン、クレアチニン、潜血、pH、亜硝酸塩、白血球）の濃度について一元配置分散分析法を行い、有意な差があったものに関してはその後、Scheffe法を行った。グルコースでは、有意差がみられたのは1回目、2回目の唾液においてのみであった。タンパク質では、1回目の唾液においてP0に対してP2、P3が、2回目、3回目の唾液においてはP0に対してP2が有意に高値であった。アルブミンでは1回目、3回目の唾液においてP0に対してP2およびP3が、2回目の唾液においてP0に対してP2が有意な差で高値であった。クレア

チニンでは1回目の唾液においてP3がP0に対して、2回目ではP2がP0に対して、3回目ではP1、P3がP0に対して有意に高値であった。pHでは、1回目、2回目の唾液においては有意な差は認められなかったが、3回目の唾液において、P3がP0に対して有意に高値であった。潜血では1回目、2回目の唾液においてP3がP0に、3回目の唾液においてはP2、P3がP0に対して有意に高値であった。亜硝酸塩では1回目の唾液においてP3がP0に、3回目の唾液においてはP2、P3がP0に対して有意に高値であった。白血球数では1回目の唾液においてP2、P3がP0に、2回目の唾液においてP3がP0に、3回目の唾液においてP1、P2、P3がP0に対して有意に高値であった（表3）。

図2 歯周病ランクと各成分値の相関
 GLU: Glucose, PRO: Protein, ALB: Albumin, CRE: Creatinine, BLD: Occult blood, NIT: Nitrite, LEU: Leukocyte
 歯周病ランクと各成分値の相関

4. 残存歯の歯周病ランクと全唾液中成分濃度との相関関係

残存歯の歯周病ランクと全唾液中成分8項目（グルコース、タンパク質、アルブミン、クレアチニン、潜血、pH、亜硝酸塩、白血球）の濃度との相関関係をスピアマンの順位相関分析法でみた。グルコースでは2回目の唾液においてのみ $p \leq 0.01$ で歯周病ランクと測定値の間に相関が認められた。タンパク質では1回目、2回目の唾液において $p \leq 0.001$ で、3回目の唾液において $p \leq 0.01$ で歯周病ランクと測定値の間に相関が認められた。アルブミンでは、1回目、2回目、3回目の唾液において $p \leq 0.001$ で歯周病ランクと測定値の間に相関が認められた。クレアチニンでも1回目、2回目、3回目の唾液において $p \leq 0.001$ で歯周病ランクと測定値の間に相関が認められた。潜血では1回目、3回目の唾液において $p \leq 0.001$ で歯周病ランクと測定値の間に相関が認められた。pHでは1回目、3回目の唾液において $p \leq 0.001$ で、2回目の唾液において $p \leq 0.05$ で歯周病ランクと測定値の間に相関が認められた。亜硝酸では1回目、2回目、3回目ともに歯周病ランクと測定値の間に相関が認められなかった。白血球数では1回目の唾液において $p \leq 0.001$ で、2回目、3回目の唾液において $p \leq 0.01$ で歯周病ランクと測定値の間に相関が認められた（図2）。

IV. 考 察

歯周病の診査・検査で現在行われている歯肉の状態（視診およびプローブなどによるGI、BOなどの検査）、歯根膜の破壊状態（プローブによるポケット検査）、骨の吸収状態（エックス線写真像による判定）などは、診査時の残存歯の歯周組織状態を示しているに過ぎず、検査がその治療に対してどのような予知性を持ち、その後の治療に如何に貢献するかは重要な問題である。歯周病の検査は歯ごとの検査が重要であるが、一方で口腔内全体における歯周組織の状態を把握する検査も大切である。チェアーサイドで簡便に唾液検査を行い、唾液中成分を数値化することが可能になれば、自覚症状のない患者に対しても情報提供・インフォームドコンセントを通じて、検査結果から歯周病罹患度を説明し、支台歯や残存歯の術後管理ならびに歯周病治療の必要性を理解させ、治療

を早期に行うことが容易となることから、装着した義歯および補綴物の長期管理にもつながる。

そこで、著者らは今回簡便な機器を用いて短時間で唾液中成分を測定できる方法を検討し、一般尿検査に用いられている試験紙を応用することにした。一般的に尿検査で用いられる試験紙は短冊状のプラスチック片に試薬を含ませた濾紙（反応部分）が貼り付けてあり、多用されているものは10項目の尿中成分を測定する複合試験紙である⁸⁾。用手法で行う場合、コップに約50 mlの尿を採取し、その中に尿試験紙を浸して直ちに引き上げ、規定の時間反応させた後、各試験片部分の呈色と添付の色調表を比較しながら判定を行う。しかし、唾液は尿と比較して試料を多量に採取することが困難なため、各試験紙片に試料を点着する方法を模索した。各試験紙片に試料を点着する際、問題となるのは唾液の粘性である。唾液は粘性があるために正確に試料を採量することが難しく、唾液中成分の正確な値を計測することが困難であった。そのため本実験では1.5 mlの蒸留水を口腔内で含嗽させ、唾液を希釈した状態で採取することにした。この方法は唾液の粘性を減じることができ、試験片への浸透をより容易にすることが可能となった。また、唾液採取1回目では、口腔内の食物残渣等が採取唾液に含まれることが予期され、2回目ではそれらが減ることによる測定結果の差異を検討するため、1、2回目の採唾法を用いた。さらに、1、2回目の採唾法では無刺激な歯周組織状態が測定結果に反映しやすく、3回目ではパラフィンガムを咀嚼することにより、残存歯や歯周組織に刺激が加わり、歯肉溝内および歯周ポケット内の内容物が採取唾液中に含まれることが予期されるので、唾液採取を3回に分けて実験を行った。

次に測定機器であるが、従来の尿検査では検査室で測定を行う場合、すべての工程を全自動で行う全自動測定装置が用いられているが、本研究では簡便にチェアーサイドで測定可能な機器として、Pocketchem UAを採用した。このPocketchem UAは小型で使用方法が容易で、短時間で測定が可能なので、この機器を用いて唾液中成分の反射率の測定を行った。その結果、尿試験紙に貼付している10測定項目のうち、8項目が測定可能となった。測定結果についてみると、グルコースでは2回目のみ歯周ランクと数値の

間に相関が認められた。柴崎らは全唾液中のグルコース量の増加は歯垢形成を促進させ、歯周病に罹患しやすい状態をつくると報告している⁹⁾。本研究結果においても 1, 3 回目の P1 は P0 よりもわずかにグルコースの量が減少したが、P2 は P0 と比較して増加傾向を示し、1, 2 回目採唾の P0 と P2 の間には有意差が認められた。この結果からグルコースの量の増加と歯周病の重症度との間に何らかの関連があることが推測された。タンパク質とアルブミンは、1, 2, 3 回目すべてにおいて歯周病ランクとの間に相関関係が認められた。木村は健康者と歯周炎患者のタンパクを電気泳動法を用いて比較検討し、両者の間に有意差はみられなかったが、歯周炎患者は高値傾向を示し、またアルブミン分画でも高値を示したと報告している¹⁰⁾。総タンパク濃度の増加は、歯周ポケット内に含まれる細菌由来の高分子物質が上皮細胞間を通過し、基底膜に達して高濃度になると浸透圧勾配が生じ、組織液が上皮細胞間隙から歯周ポケット内へ流出する。さらに炎症ケミカルメディエーターにより血管透過性が亢進していく。このようにして生じた歯肉溝滲出液には血清タンパク質を多く含むようになる。Henskens らは、健康者の総タンパク濃度は平均約 1,000 mg/l、歯肉炎患者は平均約 2,200 mg/l を示すと報告している¹¹⁾。ことから、総タンパク濃度の増加は歯肉溝滲出液の混入によるものと考えられる。高橋らは歯周ポケットの深い歯が多く存在すると全唾液中のアルブミン量が増加することが判明したと報告している⁷⁾。Meechan ら、Basu らも感染から生じた炎症反応と炎症から生じた歯周組織の破壊によって唾液中のアルブミン濃度が上昇すると報告している^{12,13)}。それらは本研究の結果と一致している。Shannon らは歯周病患者の血清中の総タンパク濃度、アルブミン、免疫グロブリン、尿酸値は正常であると報告している^{14,15)}。また Cattoni らは電気泳動による分析で血清中の総タンパク、Alb・ α_1 -G・ α_2 -G・ β -G・ γ -G 分画は進行した歯周病患者でも正常範囲内にあると報告していることから¹⁶⁾、血中アルブミン濃度は増加しない。従って増加した血中アルブミンが唾液腺から流出してきたのではなく、アルブミンを含む血中成分の歯肉溝滲出液中への滲出により歯周病患者群の唾液中アルブミン濃度が増加したものといえる。本研究においても P2, P3 のアルブミン濃度が、P0 に比較して

有意に高かったことから、アルブミンが歯周病の重症度を反映しているものと考えられる。クレアチニンも 1, 2, 3 回目すべてにおいて歯周病ランクとの間に相関が認められた。クレアチニンは蛋白質代謝から生じたアミノ酸であるアルギニンが肝臓内で合成され、クレアチンになる。クレアチンは筋細胞内に取り込まれ、筋肉、エネルギー代謝に利用され、その代謝最終産物としてクレアチニンが生じる¹⁵⁾。唾液中のクレアチニンについて論じられた論文はみつからなかったが、その作用機序については解明できなかったが、何故歯周病ランクとクレアチニン値に相関が認められるのか、興味ある知見である。pH も歯周病ランクとの間において、1, 2, 3 回目ともに相関が認められた。鶴田らは唾液中の pH が高くなると歯石沈着が起こりやすい口腔環境になり、歯周疾患に罹患するリスクが高いと考えられると報告している¹⁷⁾。内藤らは *in vitro* において、低い pH ではグラム陰性嫌気性菌の増殖はほとんど認められないが、pH が高くなるにつれてグラム陰性嫌気性菌が増殖し、歯周組織の炎症と唾液 pH との間には有意な相関があると報告しているが¹⁸⁾、それらの見解と本研究の結果は一致していた。唾液 pH が高くなると、歯周疾患に罹患するリスクが高いと考えられる。潜血・白血球数についてみると、Klink hamer らは歯肉溝から口腔内へ遊走した白血球数が歯周組織の炎症の指標として有用であると提唱しており¹⁹⁻²²⁾、Woolweaver らは白血球数と歯肉炎の程度との間に相関関係が認められたと報告している²³⁾。また野村らは、尿中潜血検査紙を利用して唾液中の血液量を測定し、歯肉炎症との間に相関関係が認められたと報告していることから、潜血・白血球数は歯周病の検査に有用であるといえる。内田らは混合唾液を採取し、被験者を歯肉からの出血・排膿・発赤・腫脹、歯の動揺、歯周ポケットの深さ、歯槽骨の吸収によって分類し、潜血・白血球数を測定した結果、唾液中の白血球数は歯周炎の程度に比例して増加し、特に歯の動揺、歯槽骨の吸収度に比例して増加した。また唾液中の潜血量は歯周病との相関は認められず、歯肉発赤との間に強い関係がみられた。さらに唾液中の潜血量と白血球数との間には相関関係が認められなかったが、唾液中の潜血量は浅在性の歯肉炎すなわち歯肉辺縁における炎症の程度の評価に、白血球数は深在性の歯周病の評価に適して

いると考えられると報告している²⁴⁾。また中村らは歯周ポケットの有無と唾液中の白血球との関係を検査し、白血球は歯周炎群(歯周ポケットの深さ4mm以上)が健常群に比較して有意に高いと報告している²⁵⁾。白血球数は本研究でも、1, 2, 3回ともに歯周病ランクとの間に有意な相関関係が認められ、また第1回目の唾液ではP0よりもP2, P3, 第2回目ではP0よりもP3, 第3回目ではP0よりもP1, P2, P3と白血球数が明らかに増加している。白血球数の増加は歯肉溝中の白血球がそのLysosomal enzymeにより炎症を惹起するとの証拠があり、また歯垢および歯石を除去すると、Chemotactic factorの除去により白血球の歯肉溝への遊走が減少するとの報告もあることから、白血球数の測定は歯周病の診査・検査に有用であると考えられる。潜血は1, 3回目が歯周病ランクとの間に有意に高い相関関係が認められた。2回目は相関関係が認められなかったが、1, 2, 3回目ともにP0の値よりも、P3は明らかに増加しており、3回目ではP0とP3のほかP2との間にも有意な差異が認められた。内田らは、潜血量は潜在性の歯肉炎の程度を評価し、深在性の歯周病の評価はできないと報告しているが、本研究結果とは一致しなかった。しかし歯周病の進行により歯周ポケット中にも歯肉側からの出血は生じるので、この相違は測定法の相違によるものと考察され、本研究の結果から、潜血も歯周病の重症度を反映すると思われる。

本研究によりタンパク質、アルブミン、クレアチニン、pH、潜血、白血球は残存歯および支台歯の歯周組織疾患の診断・評価法に応用できる可能性が示唆され、この方法は集団検診における歯周病のスクリーニング法にも適したものであると考える。

V. 結 論

全唾液を尿一般検査に用いられている試験紙と機器を用いて分析し、唾液中に含まれている成分と歯周組織の臨床所見との相関関係の有無について比較検討し、以下の結論を得た。

1. 全唾液の採取法と全唾液中成分の測定条件を確立した。
2. 健常者唾液を用いて、グルコース、タンパク質、アルブミン、ビリルビン、クレアチニン、pH、潜血、

ケトン体、亜硝酸、白血球を測定した結果、ビリルビンとケトン体は検出感度以下で測定できなかったが、残りの8項目は測定可能であった。

3. 測定可能な8項目の唾液中成分濃度の平均値は歯周病ランクが高くなるにしたがって高値を示した。P0との有意な差異はすべてに認められたが、一定の傾向はみられなかった。
4. 3回測定した8項目の各成分と歯周病ランクの相関関係をみたところ、3回採唾とも良好な相関が認められたのはタンパク質、アルブミン、クレアチニン、pH、白血球、2回採唾で認められたのは潜血、1回採唾のみはグルコース、すべて認められなかったのは亜硝酸であった。
5. 測定可能であった8項目は、残存歯の歯周組織の状態を反映しているので、臨床応用可能であることが示唆された。

文 献

- 1) Dowd FJ. Saliva and dental caries. Dent Clin North Am 1999; 43: 579-597.
- 2) Kaufman E, Lamster IB. A review. Analysis of saliva for periodontal diagnosis. J Clin Periodontol 2000; 27: 453-465.
- 3) 芝 輝彦. 義歯床の維持と口蓋腺に関与する唾液蛋白について 第1報 アガロース等電泳電気泳動法による唾液蛋白分析の基礎的検討. 補綴誌 1986; 30: 948-953.
- 4) Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. Br Dent J 1992; 172: 305-312.
- 5) 小沢徹彦. 歯肉溝滲出液中の酵素活性と臨床的指標との関係について. 昭歯誌 1993; 13: 422-432.
- 6) 木村江美子. 唾液中のラクトフェリンと蛋白分画に関する研究 昭歯誌 2001; 21: 267-278.
- 7) 高橋幸子. 有歯顎者、無歯顎者および歯周病患者の全唾液総蛋白濃度と蛋白分画の比較. 補綴誌 2004; 48: 723-732.
- 8) 星 和夫, 鈴木敏恵. III. 尿定性試験紙の取り扱い 臨床検査学講座 臨床検査総論第IV章 2004; 51-53, 東京: 医歯薬出版.
- 9) 柴崎貞二. 最新糖尿病マニュアル 糖尿病患者にみられる合併症 糖尿病と歯周病. エキスパートナース 2001; 17: 127-130.
- 10) 木村江美子. 唾液中のラクトフェリンとタンパク分画に関する研究. 昭歯誌 2001; 21: 267-278.
- 11) Henskens YMC, Velden U, Veerman ECI et al. Protein, albumin and cystatin concentrations in saliva of healthy subjects and of patients with gingivitis or peri-

- odontitis. J Periodont Res 1993; 28: 43-48.
- 12) Meechan JG. Salivary albumin concentration and periodontal disease. J Dent Res 1983; 62: 439.
- 13) Basu MK, Smith AJ, Walsh TF et al. Albumin in saliva during experimentally induced gingivitis. J Dent Res 1984; 63: 514.
- 14) Dawes C. The effects of flow rate and duration of stimulation on the concentrations of protein and the main electrolytes in human submandibular saliva. Arch Oral Biol 1974; 19: 887-895.
- 15) Edger WM, O'Mullane DM (河野正司). Saliva and oral health (唾液 - 歯と口腔の健康 1997; 31-46, 東京: 医歯薬出版), 1990.
- 16) 新臨床検査技師教育研究会. 臨床検査の知識の整理 臨床化学 2004; 207-209, 東京: 医歯薬出版.
- 17) 鶴田圭伊子. 口腔環境が細菌叢へ及ぼす影響について - 唾液 pH と縁上縁下細菌との関係. 口衛誌 2001; 51: 378-379.
- 18) 内藤浩美, 大橋一之, 神部芳則ほか. 長期経管栄養者における口腔環境に対する検討 - 唾液 pH と歯周疾患罹患状況. 咽頭細菌について -. 日本口腔科学会雑誌 2003; 52: 181-187.
- 19) 大島光宏. 新しい唾液潜血試験紙法による歯周疾患のスクリーニング試験の有用性. 日歯周誌 2001; 43: 416-423.
- 20) Klinkhamer JM. Quantitative evaluation of gingivitis and periodontal disease. I. The oroglanulocytic migratory rate. Periodontics 1968; 6: 207-211.
- 21) Klinkhamer JM. Human oral leukocytes. Periodontics 1963; 1: 109-117.
- 22) Klinkhamer JM, Zimmerman S. The function and reliability of the oroglanulocytic migratory rate as a measure of oral health. J Dent Res 1969; 48: 709-715.
- 23) Woolweaver DA, Koch GG, Crawford JJ et al. Relation of the orogranulocytic migratory rate to periodontal disease and blood leucocyte count. A clinical study. J Dent Res 1972; 51: 929-939.
- 24) 内田 武. 歯周病の臨床検査としての混合唾液中の白血球数と潜血量の検討. 日歯周誌 1976; 18: 406-413.
- 25) 中村 晶. 歯周病と唾液因子との関連性の解析 (第 3 報). 日歯周誌 2002; 47: 155.

著者連絡先: 結城 健二

〒 145-8515 東京都大田区北千束 2-1-1

TEL: 03-3787-1151 (内線 295)

FAX: 03-3784-7603

E-mail: tibinori32000@yahoo.co.jp

Establishment of Simultaneous Measurement Method of 8 Salivary Components using Urinary Test Paper and Clinical Evaluation of Oral Environment

Yuuki Kenji, Tsukasaki Hiroaki, Kawawa Tadaharu, Shiba Akihiko and Shiba Kiyoko*

Department of Prosthodontics, Showa University School of Dentistry

*Graduate School of Health Sciences, Tokyo Medical and Dental University

J Jpn Prosthodont Soc 52: 340-349, 2008

ABSTRACT

Purpose: Clinical findings were compared with glucose, protein, albumin, bilirubin, creatinine, pH, occult blood, ketone body, nitrite, and white blood cells contained in whole saliva to investigate the components that most markedly reflect the periodontal condition.

Material and Method: The subjects were staff of the Prosthodontics Department, Showa University, and patients who visited for dental treatments (57 subjects in total). At the first time, saliva samples were gargled with 1.5 ml of distilled water for 15 seconds and collected by spitting out into a paper cup. At the second time, saliva samples were collected by the same method. At the third time, saliva samples after chewing paraffin gum for 60 seconds were collected by spitting out into a paper cup. Thus whole saliva collecting that was divided on three times. After sampling, 8 μ l of the saliva sample was dripped in reagent sticks for the 10 items of urinary test paper and the reflectance was measured using a specific reflectometer. In the periodontal tissue evaluation, the degree of alveolar bone resorption, probing value, and tooth mobility and the presence or absence of lesions in the root furcation were examined and classified into 4 ranks. The mean values in each periodontal disease rank and correlation between the periodontal disease ranks and the components were statistically analyzed.

Results: Bilirubin and ketone body were not measurable. The components density of the 8 items was increased as the periodontal disease rank increased. Regarding the correlation between the periodontal disease ranks and the components, high correlations were noted for protein, albumin, creatinine, pH, and white blood cells.

Conclusion: The simultaneous measurement method of 8 salivary components using test paper may be very useful for the diagnosis of periodontal disease of abutment teeth.

Key words

saliva, periodontal disease, saliva examination, abutment tooth