原 著

辺縁性歯周炎の免疫学的研究 I

妊婦患者血清の免疫電気泳動像について

菊地万之助, 米倉秀夫, 船越正夫, 横矢久, 佐藤敏彦

岩手医科大学歯学部薬理学教室

(指導 斎藤泰一教授)

Immunological Study on Marginal Periodontitis. I. Serum Protein Analysis
in Pregnant Patients by Immuno-electrophoresis

Mannosuke KIKUCHI, Hideo YONEKURA, Masao FUNAKOSHI,
Hisashi YOKOYA and Tohihiko SATO.

Department of Pharmacology, Iwate Medical College

School of Dentistry, Morioka, Japan

(Director : Prof. Taiichi Saito)

Summary

Twenty pregnant women with marginal periodontitis and 8 pregnant women without periodontitis, aged between 21 and 30 years old, were examined. The stage of periodontitis was classified according to the slight modification of the periodontal index of Russel. Serum protein fractions were separated by electrophoresis on cellulose acetate membrane, using veronal buffer, pH 8.6, ionic strength 0.06, and measured by a densitometer after staining with Ponceau 3R. For the immuno-electrophoretic analysis agar gel plates were used. Buffer solution was veronal buffer, pH 8.6, ionic strength 0.025. Anti-human serum rabbit sera were prepared in our laboratory.

By electrophoresis on cellulose acetate γ -globulin fraction was increased in the group of moderate and advanced periodontitis, and α_2 -globulin was increased in the advanced periodontitis. By immuno-electrophoretic analysis the precipitation lines of α_2 -lipoprotein, ceruloplasmin, IgG and IgA were increased in periodontitis groups of both pregnant and non-pregnant women. α_2 -Lipoprotein and ceruloplasmin were increased due to both pregnancy and periodontitis. The increase in transferrin might be attributable to pregnancy, because it decreased in non-pregnant women with periodontitis. Haptoglobin and β_2 -globulin were increased in non-pregnant periodontitis group but no change was observed in pregnant women.

緒 言

妊娠時に口腔内に病変がおこることは旧知の事実で、妊娠時の歯肉炎の特徴は病状が部位的に多少の差はあるが、全顎的に現われる傾向があること、いわゆる妊娠性エプーリスとよばれるポリプ様増殖が起こり、それを切除しても直ちに再発すること、出産以後は速やかに症状が軽減することである。また、しばしば歯肉の炎症や増殖性炎が局部または全部性に出現しやすいと言われ、初回妊娠の場合に、軽症の歯肉炎を示したものの40%、増殖性歯肉炎を示したものの10%、妊娠腫を示したものの20%であったという報告があり¹⁾、今川ら²⁾の報告はほぼこれと一致している。即ち、本症は妊婦の約半数に及ぶと思われる。しかし妊娠時の歯周炎の発生病理については諸説があり何れとも断定し難い。私共の教室では従来より歯周疾患の免疫学的な研究を行っており、辺縁性歯周炎の場合にも免疫学的な発生病理が考えられ、血清蛋白分画にも著明な変化を来すことを報告しており³⁾、妊婦の歯周病患者にもこのような変化が見られるか否か、また妊娠だけによる血清蛋白の変化と歯周病のための変化を区別する目的でこの研究を行った。

実 験 方 法

著者らは、実験対象として岩手県内の某町立母子センターに妊婦相談に訪れた21才～30才までの妊婦で辺縁性歯周炎を伴う20名と正常な妊婦8名を選び、妊娠日数および歯周炎の症状別に血清蛋白分画および免疫グロブ

表1 Relation between age and degree of periodontitis in pregnant women

Age	Periodontal Index			
	0	2	4—6	8
21			2	1
22				1
23	1	1		
24	1	3	2	1
25				2
26	1			2
27	1			
28	2	1		1
29			2	1
30	2			
Total	8	5	6	9

リンの測定を行なった。(表1)なお歯周炎の分類は Russel⁴⁾ の Periodontal Index に石井⁵⁾らの方法を加味して分類した。

1. 血清蛋白の定量法

Cellulose acetate 膜 (Separax 常光産業) による患者血清の電気泳動を定電流、定電圧装置 (萱垣医理科製) により 1cm 幅あたり、1mA、100V の一定条件で Veronal buffer (pH 8, 6イオン強度0.06%) を用いて30分間行ない、ponceau 3R にて染色し、10%酢酸につけて脱色、流水にて余分な蛋白を流し出し、風乾のあと、流動パラフィンで透明化し、デンストメーター (東京光電 ANA-2053型) にかけて定量した。

2. 寒天免疫電気泳動法

Grabar & Williams⁶⁾ によって考案された方法によって行った。まず 7.6cm×2.5cm のスライドガラス上に pH 8.6 イオン強度 0.025 の Veronal buffer にて溶解した寒天 (J-Agar, Difco Co.) 溶液を流し、1プレートあたり、4mA、150V で45分間通電し、泳動直後中央に溝を切り、Freund's complete adjuvant 法による自家製の抗人家兎全血清を注入し、48時間湿箱内で反応させ、次いで0.9%生食水にて、2日間洗滌し余分な蛋白を除いて風乾し、aminoblack 10Bで5分間染色し、次いで10分間水洗後、風乾して観察した。

実 験 結 果

1. 妊娠月数と Index との関係は図1に示す如くで、両者の間の回帰直線は、

$y=0.783x+0.122$ で、その相関係数は

$r=0.487$ で殆んど相関関係は見られなかった。また年令と Index との関係は表1に示す如くで、両者の

図1 Relation between stage of periodontitis and months of gestation

間のその回帰直線は、
 $y=0.082x+3.57$ で、その相関係数は
 $r=0.085$ で全く相関関係は見られなかった。

2. 血清蛋白分画値

妊婦患者で初期 (PI, 2) 5名, 中等度(PI, 4-6) 6名, 重症 (PI, 8) 1名の血清を外 来初 診時に採取し、セル

ローズアセテート膜電気泳動法により 5 分画に分け、歯肉の正常な妊婦血清 8 名の値と比較した。(表 II)

Albumin および α_1 -globulin はやや低下し、 α_2 -globulin は増加の傾向がみられ、特に重症 (PI 8) の α_2 -globulin 分画は著明に増加し、推計学的にも危険率0.05 %以下で有意の差が見られた。 γ -globulin も有意に増

表 II Serum protein fractions and A/G ratios in pregnant women with periodontitis

Type	No.	Albumin	Globulin				A/G
			α_1	α_2	β	γ	
Normal	8	49.5 $\pm$ 0.8	7.2 $\pm$ 0.6	15.9 $\pm$ 1.5	9.6 $\pm$ 0.4	17.5 $\pm$ 0.3	0.97
Incipient (PI 2)	5	47.3 $\pm$ 3.4	6.3 $\pm$ 0.5	17.5 $\pm$ 1.3	11.2 $\pm$ 0.5	18.6 $\pm$ 0.6	0.90
Moderate (PI 4-6)	6	45.7 $\pm$ 1.2	6.5 $\pm$ 0.9	18.2 $\pm$ 1.0	10.0 $\pm$ 0.5	20.1 $\pm$ 0.6	0.84
Advanced (PI 8)	7	43.4 $\pm$ 1.1	5.8 $\pm$ 0.5	19.5 $\pm$ 1.2*	10.7 $\pm$ 0.8	20.5 $\pm$ 0.8*	0.76

* = $p<0.05$. PI = Periodontal Index (Russell Criteria Modif.)

表 III Changes of serum protein fractions in pregnant women with periodontitis determined by immunoelectrophoresis

Type	No.	Serum protein fractions					
		Alb.	α_2 -Lip	Cerulo.	Tf.	IgG	IgA
Normal	8	↓ 1(12.5)	↑ 3(37.5)	↑ 1(12.5)	↑ 2(28.5)	↑ 6(75)	—
PI 2	5	—	↑ 3(60)	↑ 4(80)	↑ 2(40)	↑ 4(80)	↑ 4(80)
PI 4-6	6	↓ 1(16.6)	—	↑ 6(100)	—	↑ 3(50)	↑ 3(50)
PI 8	9	↓ 3(33.3)	↑ 4(44.4)	↑ 5(55.5)	↑ 2(22.2)	↑ 6(66.6)	↑ 5(55.5)
Total	28	5(17.8)	10(35.7)	16(57.1)	6(21.4)	19(67.8)	12(42.8)

() = % ↑ = slightly increased ↑ = increased
 ↓ = decreased

Alb. = Albumin α_2 -Lip = α_2 -Lipoprotein Cerulo. = Ceruloplasmin Tf. = Transferrin
IgG = γ G-Globulin IgA = γ A-Globulin

加し、従って A/G は病状が進行するにつれて低下の傾向が見られた。

3. 免疫電気泳動による血清蛋白の変動

セルローズアセテート膜では、これらの分画しか判別できないが、さらに詳細にこの分画の内で、どのような蛋白が変化しているかを見るのに寒天免疫電気泳動法を用いて精査した。(表 III) また歯周病非妊婦と歯周病妊婦血清の免疫電気泳動像の 1 例をそれぞれ図 2.3 に示した。正常婦人に比較すると歯肉が正常の妊婦でも、Albumin が

やや低下し、 α_2 -globulin 領域の α_2 -lipoprotein, ceruloplasmin, transferrin, IgG 等のやや増加が見られ、セルローズアセテート膜電気泳動による結果とほぼ一致した。

軽度の歯周炎 (PI 2) 妊婦では α_2 -lipoprotein, ceruloplasmin, transferrin, IgG, IgA とも明らかに増加していた。また、中等度 (PI 4-6) では albumin が低下し ceruloplasmin は全例において著しく増加し IgG, IgA も増加していた。重症 (PI 8) では albumin が最

も減少し、 α_2 -lipoprotein, ceruloplasmin, transferrin, IgG, IgA とも増加していた。さらに非妊婦正常群の血清蛋白分画とこれらのデータと比較した。Albumin は正常妊婦群でやや減少し、歯周病妊婦でも減少した。Ceruloplasmin, α_2 -lipoprotein, IgG は歯周病非妊婦群、歯周病妊婦群および正常妊婦群ともに増加したが IgA は歯周病では妊娠の有無に拘らず増加し、妊婦でも歯周炎の無い群では変化がみられなかった。Haptoglobin は非妊娠歯周病⁷⁾では増加していたが妊婦では正常、歯周病群ともに変化が見られなかった。Transferrin は非妊婦では正常または減少の傾向がみられたが、妊婦では正常歯肉でもまた歯周炎でも共に増加の傾向が見られた。

考 察

妊娠性歯周病の原因については Pethmann⁹⁾ は胎盤から産生される性腺刺激ホルモンの血管に対する作用を強調し、また Lée⁸⁾ は estrogen の増加が組織の新陳代謝をたかめていることを指摘して、これが歯肉の炎症性病変をつよめやすいとし本症に対するホルモンの影響をのべている。

一方 Maier & Orfan¹⁰⁾、中村ら¹⁰⁾は妊娠時に生ずる歯肉炎の殆んど全てのは、妊娠により新しく生じたものでなく、妊娠前より存在していた歯周疾患が妊娠中の口腔内の不潔により次第に増悪したものと考えている。また松丸¹¹⁾の報告によれば、軽い歯肉炎の増強を妊婦27名について、同一人を10カ月にわたり観察した結果、歯肉炎の増強を約18%に、歯周ポケット内滲出液および、その中の血液の増加した者30%をみており、妊娠が歯周組織に及ぼす影響を軽視できないことを報告している。なお中村ら¹¹⁾が妊娠月数による症状の消長を調べた成績では妊娠3～4カ月と8～9カ月の2回に臨床症状の増強が見られ、同時に観察した歯肉毛細管の変化はそれより少し早めに同じ2つの山を作って増加するのを見ています。松丸¹¹⁾の成績では変化は4カ月から始まり、9カ月で最高になり、分娩後軽快している。われわれの成績では正常妊婦群の血清蛋白変化では非妊婦群⁷⁾と比較して albumin 分画の減少が最も著しい変化であるが、 β 分画の増加と密接な関係があると思われる。これらの変化は妊娠月数によってことなり、妊娠初期から transferrin 濃度の増加が見られ7カ月ごろ著明に増加し正常人の1.5～2.0倍に達する。また ceruloplasmin も妊娠時に2～3倍、140～480%に増加すると言われている²⁻¹³⁾。そ

図2 歯周病非妊婦血清の免疫電気泳動像 (N: 正常)

図3 歯周病妊婦血清の免疫電気泳動像 (N: 正常)

の他 α_2 -macroglobulin も増加し¹⁴⁾、とくに β_2 -リボ蛋白が妊娠後半期に増加することが指摘されている。つまり、妊娠月数が進むにつれて、歯周病の悪化の傾向がみられる。

結 論

従来の妊娠時の血清蛋白の変動に関する報告では歯周疾患の有無に関する記載が殆んど見当たらないので、われわれの結果と直接比較することはできないが、妊娠、非妊娠に拘らず歯周炎では albumin は減少し、 α_2 -lipoprotein, ceruloplasmin, IgG, IgA は増加していた。 α_2 -lipoprotein と ceruloplasmin は歯周炎のみならず妊娠でも増加をみた。Transferrin の増加は妊娠によるものであり、歯周炎だけでは減少の傾向が伺われた。Haptoglobin と β_2 -globulin は歯周炎があれば増加を示し妊娠を伴った増量は増加が見られなかった。特徴的なのは免疫 globulin の IgA が歯周炎のみに増加していることである。なお、これらの値は定性的な手法にもとづくものであるから、定量的には目下検討中である。

稿を終るにあたり、終始ご指導ご校閲いただきました斎藤泰一教授に深甚の謝意を表します。

引 用 文 献

- 1) Looby, J. P. cited by Burket, L. W. : Oral Medicine, J. B. Lippincot Co., Philadelphia, 1946, p234.
- 2) 今川与曹 : 妊娠並びに産褥と口腔変化について, 口腔病学会誌, 10 : 550, 1936.
- 3) Saito, T., Sato, T., Yoshijima, I., Hatakeyama, T. and Suzuki, K. : Serum protein analysis by immuno electrophoresis in patients with periodontal diseases. Archs oral Biol. 14 : 1113, 1969.
- 4) Russel, A. L. : A system of classification and scoring for prevalence surveys of periodontal disease. J. Dent. Res. 35 : 350, 1956.
- 5) 石井俊文, 吉田茂, 小谷大発, 佐々木達夫, 片桐敏夫 : 歯周疾患に関する研究, 第1報 口腔内症状の表示について, 口腔衛生会誌 13 : 116, 1964.
- 6) Grabar, P. and Williams, C. A. : Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immuno-chimiques d'un mélange de protéines. Application au sanguin. Biochim. biophys. Acta 10, 193, 1953.
- 7) Bethmann, W. : Der experimentelle Untersuchungen über den Verlauf der normangischen Entzündung unter der Einwirkung weiblicher Sexualhormone. Deutsch. Zahn, Mundund Kieferheilkunde. 17 : 452 1953.
- 8) Lée, H. : Periodontal changes in pregnancy. J. Periodont., 36 : 209, 1965.
- 9) Maier, A. W. and Orban, B. : Gingivitis in pregnancy. O. S. O. M. O. P. 2 : 334, 1949.
- 10) 中村治郎, 橋口精範, 加藤照 : 妊婦歯肉の継続的観察, 日本口腔科学会誌13 : 1, 1964.
- 11) 松丸健三郎 : 妊婦歯周組織の生物学的観察, 口腔病学会誌 35 : 126, 1968.
- 12) Morkawitz, J. L., Gubler, O. J., Mohony, J. P., Coright, G. E. and Wintrobe, M. M. : J. clin. Invest. 54 : 1498, 1955.
- 13) Laurell, C. B. and Nyman, M. : Blood. 12 : 493, 1957.
- 14) Laurell, C. B. : Scand. J. clin. lab. Invest. 21 : 136, 1968.