口腔清掃停止による全唾液，歯垢および歯肉溝浸出液中の Kinins および Kininase の推移について

水野 由紀夫

愛知学院大学歯学部歯周治療学教室

(指導：中静 正教授)

(昭和54年3月20日受付)

The Variation of Kinin Contents and Kininase Activities in
the Saliva, Plaque and Gingival Fluid of the
Healthy People without Oral Hygiene

Yukio MIZUNO

Department of Periodontology, School of Dentistry,

Aichigakuin University

(Director: Prof. Tadashi NAKASHIZUKA)

The present study was performed to elucidate the variation of kinin contents and kininase activities in the saliva, plaque and gingival fluid of the healthy people without oral hygiene.

Nine male dental students, aged 20-24, were the experimental subjects. All of the participants had a tooth scaling and polishing, and then they were instructed not to brush their teeth for the following 10 days. At the 11th day, they were allowed to have a tooth brushing (Rolling method) 3 times a day for 5 days. The collection of samples (saliva, plaque and gingival fluid) and clinical examinations were performed daily for the entire experimental period (16 days). Kinin contents and bradykininase activities in the samples were assayed by a biological method of Takeya et al. The bradykininase activity was determined by measuring the percent of inactivation of added bradykinin (1 μ g/ml).

The following results were obtained;

1. The plaque index, gingival index and amount of gingival fluid were increased throughout the period without oral hygiene (10 days). These clinical scores showed a rapid decline when the oral hygiene procedure was resumed.
2. Kinin contents in the samples were almost zero for 5 or 6 days after stopping of the oral hygiene, and then it increased gradually for the following 4 or 5 days. The oral hygiene procedure was resumed at 10 days, and after that kinin contents decreased rapidly until these were not measured in the samples.
3. Bradykininase activities in the samples decreased gradually after the oral hygiene was stopped, and these enzyme activities disappeared at 4-5 days after stopping of the oral hygiene. But, after the resume of oral hygiene, the enzyme activities rapidly increased to the level of the first days of the experiment.

I. 緒 言

kinins は生体の炎症過程における重要な化学的因子の一つである。血漿、体液、尿などに存在しているが、炎症時には炎症局所にあられ、作用するといわれている¹⁾。一方、kinin を分解する kininase も広く生体内に存在しているといわれている¹⁾。従って、生体内においては常に kinins の生成と分解が全身のいろいろの組織や分泌液中で行われているものと考えられる。換言すれば、炎症局所において kininogenase によって生成される kinins が kininase によって分解される以上に生成されるか、あるいは kininase が何らかの作用によって抑制、減少あるいは消失されると、炎症局所に多量の kinins が蓄積されて炎症が進展増悪することが考えられる。

さて、歯周病と kinins または kininase との関係について、唾液方面から Sally ら²⁾、Amundsen ら^{3,4)}、Tonzetich ら⁵⁾、竹谷ら⁶⁾、水野⁷⁾、斉藤ら^{8,9)}など、歯肉溝浸出液方面から Kroeger ら¹⁰⁾、Rodin ら¹¹⁾、大森¹²⁾、水野⁷⁾、斉藤ら^{8,9)}などの報告がある。しかし、歯垢方面からの報告は全く見られない。また、歯周病の予防や治療に欠くことの出来ない基本的処置であるスクレーリングやブラッシングによる口腔清掃の効果についての報告は多いが、ブラッシング停止による歯垢堆積や歯肉炎症についての報告は少なく、Löe ら¹³⁾、Theilade ら¹⁴⁾、Tzamouranis ら¹⁵⁾の報告があるに過ぎない。

そこで、著者は口腔清掃の停止や開始による歯垢指数、歯肉炎症指数および歯肉溝浸出液量の推移と全唾液、歯垢および歯肉溝浸出液中の kinins 量および kininase (bradykininase) 活性値の推移について検索したので報告する。

II. 実験の材料と方法

1. 被検者

全身的に健康、かつ正常な歯列と健康な歯周を有する20歳から24歳までの歯学部男子学生9名を被検者として選択した。

2. 実験の期間と処置

実験期間は16日間である。

被検者は予め実験に先立ってローリング法によるブラッシングが毎食後十分行えるように訓練し、歯肉炎症指数が零となったものについて行った。実験開始3日前に

スクレーリングとルートプレーニングを行い、さらに実験開始日に再度ルートプレーニングを行った。実験開始後はブラッシング、その他の口腔清掃を10日間全く停止させた。実験開始10日後(11日目)に臨床診査や試料採取後、ルートプレーニングを行い、その後は毎食後ブラッシングを行わせた。

なお、実験期間中の日常生活や食事については従来通り行わせ、口腔清掃以外に特別な指示を与えなかった。

3. 歯垢指数と歯肉炎症指数

臨床診査は実験期間中毎日午後3時から4時までの間に、予め訓練した3人の検査員によって、つぎの基準に従って行い、指数の高い方を採用した。

1) 歯垢指数

Greene-Vermillion¹⁶⁾のOHI-Sを参考にして、主として $\frac{6}{6} \frac{1}{1} \frac{6}{6}$ を診査評価し、1歯当たりの歯垢指数(D1-S)で表示した。このときの歯垢指数は最小値0、最大値3である。

2) 歯肉炎症指数

Löe-Silness^{17,18)}のGIを参考にして、主として $\frac{6}{6} \frac{1}{1} \frac{6}{6}$ を診査評価し、1歯当たりの歯肉炎症指数(GI)で表示した。このときの歯肉炎症指数は最小値0、最大値3である。

4. 試料の採取方法と処置

試料採取は実験期間中毎日臨床診査後、午後3時30分から4時30分までの食間に行った。

1) 全唾液

被検者に蒸留水で軽くうがいをさせた後、自然に流出する無刺激全唾液を遠沈用ビニール管に採取した。採取後、直ちに kinins 測定の場合には kininase 抑制剤として終濃度で3mMの1,10-phenanthroline、また kininase 活性値測定の場合には全唾液3mlに対して kinins 生成抑制剤として500 K.I.U.のTrasyolol 1mlを加え、冷却遠心器(2500g, 20min., 0°C)にて処理して、その上清液を全唾液の kinins と kininase の被検液とした^{7,12)}。

2) 歯垢

歯垢は全唾液を採取した後、7/7の頰側の近遠心側歯頸付近から、プラスチック製筥にて採取、濾紙片につけた後、秤量した。秤量後、直ちに遠沈用ビニール管に入れ、直ちに全唾液と同様に抑制剤を加え、処理して、その上清液を歯垢の kinins と kininase の被検液とした。

なお、ルートプレーニングを行った実験開始日とその翌日、さらにルートプレーニングとブラッシング再開後は測定可能な歯垢量は採取できなかった。

3) 歯肉溝浸出液

歯肉溝浸出液は全唾液と歯垢を採取した後、濾紙による溝内法で 2112 の唇側歯肉溝から通法により採取した。歯肉溝浸出液の浸潤した濾紙片を秤量して採取前後の濾紙片の重量差をもって歯肉溝浸出液量 mg とした^{7,12,19,20)}。秤量後、直ちに遠沈用ビニール管に入れ、全唾液と同様に抑制剤を加え、Polytron (4500 r.p.m., 20 sec., 0°C) でホモジナイズした後、その上清液を歯肉溝浸出液の kinins と kininase の被検液とした^{7,12)}。

5. kinins と kininase (bradykininase) の測定

モルモットの回腸を用いる生物検定法によって測定した^{7,12,21)}。すなわち、モルモットを urethane 麻酔 (1 g/kg) して後頭部をハンマーにて叩き、直ちに頸動脈を切断して放血、致死後、回腸を摘出して酸素飽和 Tyrode 氏液中に一時保存した。使用に際して回腸を長さ 1~2 cm に切断して両端を細い糸で結紮し、一端を酸素吸入管に、他端を staingauge 型の F-D transducer (日本光電製) のフックにかけて懸垂し、回腸にかかる静止時張力を 100~200 mg 程度とした。kinins によって回腸の収縮を来す張力を F-D transducer で電気量に変換した後、交流増幅 (日本光電製 MP 3 A) し、ついで直流成分を D-C 増幅器で取り出して記録計の紙上に記録した。浴槽の容量は 10 ml とし、酸素を絶えず吹入し、同時に攪拌した。なお、浴槽の温度は 30°C に保った^{7,12,21)}。

1) kinins 量

被検液を試験管に 1 ml 入れ、さらに 10 ml になるように Tyrode 氏液を加えて調整した後、30°C の恒温槽内で 10 分間 incubation して生物検定法により kinins 量を測定した。すなわち、被検液中の kinins によって発生する収縮張力の極大を測定した。そして実験毎に合成 bradykinin を用いて作製した検量線から被検液中の kinins 量を算出した。kinins 量は全唾液では 10^{-6} g/ml、歯垢と歯肉溝浸出液では 10^{-6} g/mg で表示した⁷⁾。

2) kininase 活性値

被検液を 10 ml 試験管に 1 ml 入れ、ついて 9 ml になるように Tyrode 氏液を加え、さらに 10^{-5} g/ml の合成 bradykinin 1 ml を加えた後、30°C の恒温槽内で 10 分間 incubation して生物検定法により bradykininase (kininase) 活性値を測定した。すなわち、被検液中の bradykininase によって不活性化され、さらに残存する添加合成 bradykinin によって発生する収縮張力の極大を測定した。そして実験毎に合成 bradykinin を用いて作製した検量線から被検液中の bradykininase

活性値を算出した。kininase 活性値は incubation time 10 min で分解された合成 bradykinin 量を%で表示した。すなわち、分解された合成 bradykinin 量 (%) が多ければ、kininase 活性値が高いことになる。

なお、検量線は一定量の合成 bradykinin によって腸管の収縮をきたす収縮張力の極大を尺度として作製した。

III. 実験成績

1. 歯垢指数、歯肉炎症指数および歯肉溝浸出液の推移

各被検者の実験期間における歯垢指数、歯肉炎症指数および歯肉溝浸出液量の平均値および標準偏差は表 1 に示す通りである。また、図 1 のグラフは各平均値の経日の推移を示したものである。

1) 歯垢指数

歯垢堆積は口腔清掃の停止 1 日後 (2 日目) に 7 例、2 日後から全例にみられ、しかも 7 日後にはほぼピークに達した。その後、口腔清掃の開始まで余り変わらなかった。しかし、口腔清掃の開始後みられなくなった。

2) 歯肉炎症指数

歯肉炎症は口腔清掃の停止 3 日後 (4 日目) に 1 例、4 日後に 3 例、5 日後に 3 例、6 日後に 1 例、計 7 例に発生したが、2 例は口腔清掃の停止期間 (10 日間) には歯肉炎症は発生しなかった。歯肉炎症の発生した 7 例は口腔清掃の開始 3 日後 (4 日目) に 5 例、4 日後に 1 例、5 日後に残る 1 例も消退した。なお、歯肉炎症が最後に消退した 1 例は口腔清掃の停止 3 日後 (4 日目) に歯肉炎症が現われ、7 日後 (8 日目) に臨床的に軽度の歯肉炎と診断された。この例は歯垢指数が停止 3 日後には、2.50、4 日後には 2.83、5 日後には最大値の 3 を示した。

3) 歯肉溝浸出液量

歯肉溝浸出液は全実験期間を通じて全例から採取することができた。歯肉溝浸出液は口腔清掃の停止から緩かな増加を示した。しかし、口腔清掃の開始後、急激に減少して実験最終日 (16 日目) には口腔清掃の停止日よりも低下した。

以上のことから、肉眼的にみられる歯垢堆積は口腔清掃の停止後、早いものは 3 日後 (4 日目) から、多くは 5 日後から歯肉炎症が発生する。なお、口腔清掃の停止 10 日以内に臨床的に軽度の歯肉炎が発生するものや歯肉炎症が全く発生しないものがある。また、歯垢堆積が始

表 1 Mean and Standard Deviation of Plaque Index, Gingival Index and Gingival Crevicular Fluid during the Experimental Period

		Days of no oral hygiene										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Plaque Index (9)	Range	0	0.00 -1.33	1.00 -1.83	1.25 -2.50	2.00 -2.83	2.50 -3.00	2.50 -3.00	2.83 -3.00	3.00 -3.00	3.00 -3.00	3.00 -3.00
	Mean±S. D.	0	0.85 ±0.36 (7)	1.33 ±0.31 (9)	1.81 ±0.42 (9)	2.54 ±0.40 (9)	2.76 ±0.21 (9)	2.90 ±0.21 (9)	2.97 ±0.17 (9)	3.00 ±0.00 (9)	3.00 ±0.00 (9)	3.00 ±0.00 (9)
Gingival Index (9)	Range	0	0	0	0.00 -0.33	0.00 -0.67	0.00 -0.67	0.00 -0.83	0.00 -1.16	0.00 -1.33	0.00 -1.33	0.00 -1.33
	Mean±S. D.	0	0	0	0.04 ±0.14 (1)	0.17 ±0.25 (3)	0.45 ±0.25 (6)	0.57 ±0.19 (7)	0.67 ±0.25 (7)	0.73 ±0.27 (7)	0.78 ±0.23 (7)	0.81 ±0.23 (7)
Fluid(mg) (9)	Range	0.30 -4.20	0.30 -5.50	0.50 -6.20	0.30 -5.90	0.70 -7.30	0.80 -7.20	0.70 -6.80	0.60 -7.80	0.70 -5.60	0.80 -6.90	0.70 -7.80
	Mean±S. D.	1.48 ±1.83 (9)	1.83 ±1.60 (9)	1.83 ±1.78 (9)	1.94 ±2.08 (9)	2.48 ±2.02 (9)	2.53 ±2.21 (9)	3.00 ±1.95 (9)	2.64 ±2.24 (9)	2.83 ±1.58 (9)	2.98 ±1.85 (9)	3.02 ±2.22 (9)
		Days of oral hygiene										
		12	13	14	15	16						
Plaque Index (9)	Range	0	0	0	0	0						
	Mean±S. D.	0	0	0	0	0						
Gingival Index (9)	Range	0.00 -0.83	0.00 -0.67	0.00 -0.33	0.00 -0.33	0						
	Mean±S. D.	0.42 ±0.19 (7)	0.36 ±0.17 (7)	0.09 ±0.17 (2)	0.04 ±0.14 (1)	0						
Fluid(mg) (9)	Range	0.90 -6.20	0.30 -6.30	0.40 -5.90	0.30 -4.20	0.30 -4.10						
	Mean±S. D.	2.12 ±1.95 (9)	1.71 ±1.80 (9)	1.45 ±1.76 (9)	1.40 ±1.28 (9)	1.35 ±1.26 (9)						

まると、次第に歯肉溝浸出液が増加し出す。ある程度（凡そ 50%）増加すると歯肉炎症が発生し、その後歯肉炎症の進展にともなって次第に増加する傾向がある。しかし、口腔清掃の開始によって歯垢が除去されて歯肉炎症が消退するにともなって歯肉溝浸出液は減少して停止前になる。

2. kinins 量および kininase 活性値の推移
各被検者の実験期間における全唾液、歯垢および歯肉溝浸出液中の kinins 量および kininase 活性値は表 2、3、4 に、これらの平均値および標準偏差は表 5 に示す通りである。また、図 2 のグラフは各平均値の経日的推移を表示したものである。

图 1 Variation of the Mean of Plaque Index Score, Gingival Index Score and Gingival Crevicular Fluid Quantities during the Expeaimental Period

表 2 Bradykininase Activities and Kinin Contents in the Saliva during the Experimental Period

No.		Days of no oral hygiene										Days of oral hygiene					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	Bradykininase	62.5	51.7	20.0	12.3	3.3	0	0	0	0	0	0	0	0	14.8	27.7	64.3
	Kinins	0	0	0	0	0	1.2	1.2	1.7	1.5	0.7	1.2	1.2	1.0	0	0	0
2	Bradykininase	68.7	54.3	28.3	8.7	4.2	0	0	0	0	0	0	0	0	9.7	29.6	71.4
	Kinins	0	0	0	0	0	0.8	0.9	1.2	2.0	2.2	2.7	1.7	0.3	0	0	0
3	Bradykininase	68.7	56.1	50.0	20.3	4.2	0	0	0	0	0	0	0	0	17.7	37.1	65.2
	Kinins	0	0	0	0	0	0.3	0.7	1.3	2.2	2.2	3.0	1.5	0	0	0	0
4	Bradykininase	50.0	48.7	33.3	16.5	5.0	0	0	0	0	0	0	0	3.8	22.3	40.6	60.7
	Kinins	0	0	0	0	0	0.2	0.2	0.5	1.2	1.7	2.7	0	0	0	0	0
5	Bradykininase	66.7	61.7	50.0	19.7	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	22.3	29.6	60.7
	Kinins	0	0	0	0	0	0.6	0.7	1.0	1.7	2.0	2.7	1.2	0	0	0	0
6	Bradykininase	53.3	47.3	33.3	17.3	5.0	0	0	0	0	0	0	0	10.8	22.3	44.8	53.6
	Kinins	0	0	0	0	0	0.2	0.2	1.0	1.8	2.0	3.5	0.7	0	0	0	0
7	Bradykininase	61.5	61.1	44.4	8.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35.7	57.2	66.7
	Kinins	0	0	0	0	0	0.8	0.8	1.0	1.2	2.7	2.7	0.7	0	0	0	0
8	Bradykininase	61.1	56.4	50.0	16.7	0	0	0	0	0	0	0	0	2.5	25.0	62.5	66.7
	Kinins	0	0	0	0	0.5	0.7	0.7	1.0	1.5	2.0	2.5	0	0	0	0	0
9	Bradykininase	61.1	51.3	40.0	16.7	3.8	0	0	0	0	0	0	4.3	14.3	33.3	66.7	66.7
	Kinins	0	0	0	0	0	0.5	0.7	1.2	1.5	2.0	2.0	0	0	0	0	0

The bradykininase activities are expressed as the percent to produce inactivation of added bradykinin (1 μ g)

The kinin contents are expressed as μ g/ml

表 3 Bradykininase Activities and Kinin Contents in the Plaque during the Experimental Period

No.		Days of no oral hygiene										Days of oral hygiene					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	Bradykininase Kinins	— —	— —	15.3 0	0 0	0 0.2	0 0.3	0 1.0	0 1.2	0 1.7	0 2.0	0 2.0	— —	— —	— —	— —	— —
2	Bradykininase Kinins	— —	— —	26.9 0	2.3 0	0 0.5	0 0.8	0 1.0	0 2.0	0 2.7	0 2.7	0 2.7	— —	— —	— —	— —	— —
3	Bradykininase Kinins	— —	— —	7.3 0	0 0	0 0	0 0.8	0 0.7	0 1.7	0 2.5	0 2.7	0 2.7	— —	— —	— —	— —	— —
4	Bradykininase Kinins	— —	— —	11.1 0	1.7 0	0 0.7	0 0.7	0 1.2	0 2.5	0 3.0	0 3.0	0 3.2	— —	— —	— —	— —	— —
5	Bradykininase Kinins	— —	— —	11.1 0	2.1 0	0 0.3	0 0.7	0 0.7	0 1.5	0 2.7	0 2.7	0 3.5	— —	— —	— —	— —	— —
6	Bradykininase Kinins	— —	— —	22.3 0	0 0	0 0	0 0.5	0 1.0	0 1.2	0 2.5	0 2.5	0 2.5	— —	— —	— —	— —	— —
7	Bradykininase Kinins	— —	— —	26.7 0	3.3 0	0 0.2	0 0.7	0 1.0	0 1.2	0 2.0	0 2.0	0 3.0	— —	— —	— —	— —	— —
8	Bradykininase Kinins	— —	— —	13.3 0	2.3 0	0 0	0 0.3	0 0.5	0 1.0	0 1.5	0 1.5	0 1.5	— —	— —	— —	— —	— —
9	Bradykininase Kinins	— —	— —	13.3 0	0 0	0 0.3	0 0.7	0 0.7	0 1.0	0 2.2	0 2.5	0 2.3	— —	— —	— —	— —	— —

1) 全唾液中の kinins 量および kininase 活性値

kininase 活性値は口腔清掃の停止3日後まで全例に測定された。停止日が最も高い活性値を示し、その後次第に低下し、4日後(5日目)2例測定できず、うち1例に kinins 量が測定された。5日後全例に kininase 活性値は測定できず、その代りに kinin 量が全例測定できた。その後 kinins 量は次第に増加して口腔清掃の停止の最終日(11日目)に実験期間中の最高値を示した。しかし、口腔清掃の開始1日後(2日目)3例に kinins 量が測定できず、うち1例に kininase 活性値が測定できた。2日後7例に kinins 量が測定できず、その代り4例に kininase 活性値が測定できた。開始3日後全例に kinins 量が測定できず、その代りに全例に kininase 活性値が測定できた。実験最終日(16日目)には口腔清掃の停止日の kininase 活性値に回復した。

2) 歯垢中の kinins 量および kininase 活性値

kininase 活性値は口腔清掃の停止2日後(3日目)始めて測定でき、全例にみられたが、3日後4例、4日後全例に kininase 活性値が測定できず、その代りに6例に kinins 量が測定できた。5日後全例に kinins 量

が測定できた。その後、kinins 量は次第に増加して口腔清掃の停止最終日(11日目)に実験期間中の最高値を示した。なお、口腔清掃の開始後は測定できなかった。

3) 歯肉溝浸出液中の kinins 量および kininase 活性値

kininase 活性値は口腔清掃の停止日が最も高い活性値を示し、その後次第に低下し、4日後(5日目)に8例測定できず、その代り8例に kinins 量が測定できた。5日後 kininase 活性値は全例測定できず、その代り全例に kinins 量が測定できた。その後、kinins 量が次第に増加して口腔清掃の停止最終日(11日目)に実験期間中の最高量を示した。しかし、口腔清掃の開始1日後(2日目)には、kinins 量は全例に測定できたが、2日後には2例、3日後には全例測定できなかった。その代りに3日後から kininase 活性値が全例測定できた。実験最終日には口腔清掃の停止日(1日目)の Kininase 活性値に回復した。

以上のことから、全唾液、歯垢および歯肉溝浸出液中の kininase 活性値は口腔清掃の停止により経時的に減少して4~6日後に消失し、その代りに kinins 量が経

表 4 Bradykininase Activities and Kinin Contents in the Gingival Crevicular Fluid during the Experimental Period

No		Days of no oral hygiene											Days of oral hygiene				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	Bradykininase Kinins	66.2 0	57.8 0	26.7 0	8.7 0	3.3 0	0 1.5	0 1.7	0 2.5	0 2.5	0 4.5	0 4.7	0 2.5	0 0.2	17.3 0	33.3 0	71.4 0
2	Bradykininase Kinins	50.0 0	47.5 0	35.0 0	12.8 0	0 0.3	0 1.1	0 1.5	0 2.5	0 3.0	0 4.2	0 5.0	0 1.2	0 0.2	21.3 0	30.4 0	59.2 0
3	Bradykininase Kinins	50.0 0	38.7 0	35.0 0	17.3 0	0 0.7	0 1.0	0 1.2	0 3.5	0 3.5	0 3.5	0 4.5	0 2.0	0 0.3	18.6 0	37.1 0	66.7 0
4	Bradykininase Kinins	71.4 0	53.7 0	22.3 0	7.3 0	0 1.5	0 1.5	0 2.2	0 2.2	0 2.5	0 3.5	0 4.0	0 1.0	0 0.5	23.6 0	25.0 0	44.4 0
5	Bradykininase Kinins	60.0 0	52.3 0	22.3 0	21.1 0	0 1.0	0 1.2	0 1.7	0 2.0	0 2.7	0 3.2	0 3.2	0 1.2	0 0.7	38.9 0	40.0 0	59.2 0
6	Bradykininase Kinins	72.7 0	56.4 0	33.4 0	30.3 0	0 0.3	0 1.3	0 1.7	0 2.2	0 2.5	0 3.0	0 3.7	0 0.5	0 0.3	12.3 0	52.4 0	66.7 0
7	Bradykininase Kinins	72.3 0	61.1 0	33.3 0	22.3 0	0 1.5	0 1.5	0 1.7	0 2.7	0 3.5	0 5.5	0 5.5	0 1.0	0 0.5	22.3 0	66.7 0	73.5 0
8	Bradykininase Kinins	66.7 0	50.0 0	33.3 0	30.3 0	0 1.2	0 1.5	0 2.0	0 2.5	0 3.0	0 4.2	0 4.7	0 1.0	0 0	11.1 0	47.5 0	72.3 0
9	Bradykininase Kinins	72.3 0	61.1 0	31.1 0	27.7 0	0 1.2	0 1.5	0 2.2	0 3.5	0 3.7	0 5.7	0 5.7	0 1.2	0 0	22.3 0	66.7 0	70.6 0

目的に増加する。また口腔清掃の開始により kinins 量は1〜3日後に消失し、その代りに kininase 活性値が経目的に次第に増加し、5日位で口腔清掃の停止日の活性値に回復する。全唾液と歯肉溝浸出液中の kinins 量および kininase 活性値は経目的にほぼ同じような推移を示す。歯垢は実験期間を通じて測定できなかったが、全唾液と歯肉溝浸出液と同じような推移を示すことが推察される。

IV. 考 察

歯肉炎や歯周炎の病因として多くの局所因子があげられているが、口腔清掃の不良は歯周組織に対して他の因子よりも不偏的な強い影響を与える。すなわち、口腔清掃が悪いと、歯面、辺縁歯肉、歯肉溝、歯石、修復物などの上に軟かい無定形の顆粒の粘着物である歯垢が堆積する。歯垢は主として増殖している微生物によって構成されていて、粘膜性の細菌間基質中に剝離上皮細胞、白血球、食細胞などが混在している。そして、歯垢内細菌

の毒素やその代謝産物である酵素が歯肉の上皮細胞間橋を破壊したり、あるいは上皮下毛細血管の透過性を亢進したりして、歯周組織を損傷して歯肉炎が発生する²²⁾。

さて、口腔清掃度、すなわち歯垢や歯石の堆積量と歯肉炎や歯周炎の罹患状態との関係については多くの報告があり、その間に高い相関性のあることが認められている^{23~26)}。

Löe ら¹³⁾、Theilade らは口腔清掃の停止による経日的な歯垢指数や歯肉炎症指数や歯肉炎の発生と歯垢内細菌の構成について検べている。Löe ら¹³⁾によると、口腔清掃の停止日における歯垢指数は平均 0.43、歯肉炎症指数は平均 0.27、21日後の終了日における歯垢指数は平均 1.67、歯肉炎症指数は平均 1.05 と増加し、口腔清掃の開始10日後には歯垢指数平均 0.17、歯肉炎症指数 0.11 に減少する。さらに歯肉炎は口腔清掃の停止10日以内に3人、15〜21日以内に残る被検者9人に発生する。また Theilade ら¹⁴⁾によると、口腔清掃の停止の第1段階(1〜2日)には、歯垢中に口腔常在性の gram 陽性の球

表 5 Mean and Standard Deviation of Bradykininase Activities and Kinin Contents in the Saliva, Plaque and Gingival Crevicular Fluid during the Experimental Period

		Days of no oral hygiene										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Saliva (9)	Bradykininase	61.51 ±6.07 (9)	54.28 ±4.82 (9)	38.81 ±10.18 (9)	15.16 ±4.16 (9)	3.11 ±1.81 (7)	0	0	0	0	0	0
	Kinins	0	0	0	0	0.50 (1)	0.62 ±0.30 (9)	0.70 ±0.31 (9)	1.12 ±0.31 (9)	1.64 ±0.34 (9)	1.96 ±0.51 (9)	2.57 ±0.62 (9)
Plaque (9)	Bradykininase	—	—	16.36 ±6.76 (9)	1.30 ±1.22 (5)	0	0	0	0	0	0	0
	Kinins	—	—	0	0	0.26 ±0.25 (6)	0.64 ±0.21 (9)	0.88 ±0.23 (9)	1.49 ±0.47 (9)	2.32 ±0.49 (9)	2.41 ±0.46 (9)	2.63 ±0.58 (9)
Fluid (9)	Bradykininase	64.62 ±8.73 (9)	53.07 ±6.99 (9)	30.26 ±4.88 (9)	19.75 ±8.34 (9)	3.30 (1)	0	0	0	0	0	0
	Kinins	0	0	0	0	0.87 ±0.51 (8)	1.35 ±0.21 (9)	1.79 ±0.31 (9)	2.63 ±0.51 (9)	2.99 ±0.45 (9)	4.15 ±0.92 (9)	4.57 ±0.76 (9)
		Days of oral hygiene										
		12	13	14	15	16						
Saliva (9)	Bradykininase	4.30 (1)	3.48 ±5.08 (4)	22.56 ±7.78 (9)	43.97 ±14.04 (9)	64.00 ±4.80 (9)						
	Kinins	0.80 ±0.64 (6)	0.68 ±0.33 (2)	0	0	0						
Plaque (9)	Bradykininase	—	—	—	—	—						
	Kinins	—	—	—	—	—						
Fluid (9)	Bradykininase	0	0	20.85 ±7.63 (9)	44.34 ±14.29 (9)	64.88 ±8.82 (9)						
	Kinins	1.30 ±0.57 (9)	0.32 ±0.23 (7)	0	0	0						

図 2 Variation of the Mean of Bradykininase Activities and Kinin Contents in the Saliva, Plaque and Crevicular Fluid during the Experimental Period

菌と桿菌の出現が殆んどであり、第2段階（2～4日）には、これらの細菌の他に紡錘菌と線状微生物が多く出現し、さらに第3段階（4～9日）には、spirochaete と spirillum が現われて菌叢は極めて複雑になるが、7日目頃から gram 陽性の球菌と桿菌が少なくなると報告している。Tzamouranis ら¹⁵⁾は、Löe ら¹³⁾、Theilade ら¹⁴⁾と全く同様な実験を行い、一定期間ごとに歯肉溝洗滌液中の free と total cathepsin D 活性値を測定している。彼らによると、臨床所見、すなわち、歯垢指数、歯肉炎症指数および歯肉溝浸出液量は口腔清掃の停止最終日（21日目）に最高に達するが、口腔清掃開始とともに急速に減少すると報告している。また、free と total cathepsin D 活性は臨床所見におくれて現われ、歯肉炎症の進展増悪にともなって増加し、停止最終日に最高値に達するが、開始とともに減少すると報告している。

著者の実験においては、個人差はあるが、経日的な歯垢指数は口腔清掃の停止によって5日まで急速に増加し、その後漸増し、ほぼ7日後（8日目）にピークに達し、その後余り変化しなかった。しかし、歯肉炎症は歯垢堆積に比べて3日位遅れて発生し、その後徐々に増加した。このことは、Löe ら¹³⁾、Theilade ら¹⁴⁾、Tzamouranis ら¹⁵⁾の報告とほぼ同じである。また、著者の実験においては、口腔清掃の開始時にルートプレー

ニングを行ったので、歯垢堆積は Löe ら¹³⁾、Theilade ら¹⁴⁾、Tzamouranis ら¹⁵⁾の報告と違って1日で消失した。そのために歯肉炎症も全例4日後（5日目）に消失した。さらに、歯肉炎症は口腔清掃の停止7日後に9人中1人に発生したが、口腔清掃の開始翌日に歯肉炎症は消失した。前述したが、Theilade ら¹⁴⁾は停止9～13日以内に11人中3人に発生したと報告している。このことから見て著者の実験成績も、ほぼ同じである。以上のことから、口腔清掃と歯垢堆積との関係、歯垢堆積と歯肉炎症との関係、歯肉炎症と歯肉炎症の関係について明らかにし得たものとする。

つぎに、著者の実験成績が、歯肉溝浸出液は、口腔清掃の停止によって歯垢指数ほど急速に増加をしないで、徐々に増加した。しかし、歯肉炎症の現われる2～3日前から次第に増加し、歯肉炎症が現われてからは歯肉炎症指数の増加にともなって増加する傾向がみられた。口腔清掃の開始とともに歯肉炎症指数が急速に減少すると同様に減少し、5日後には停止日よりむしろ減少した。このことから、歯肉溝浸出液量と歯肉炎症の関係について、Mann¹⁹⁾、Egelberg²⁷⁾、Björn ら²⁸⁾、Tzamouranis ら¹⁵⁾、その他の報告を改めて裏付けすることができたものとする。

歯周病と kinins や kininase との関係について、前

述した研究者によって報告されているが, kinins や kininase の測定法がまちまちであり, また被検者や試料採取の条件が違っているため, どんな kinin (bradykinin, kallidin, methionyl-lysyl-bradykinin, その他) や kininase か, また量的なことについて直接比較検討することができない。しかし, 全唾液や歯肉溝浸出液中の kinins や kininase の存在, その量や活性値の増減について凡そ比較検討することはできる。

さて, 全唾液中の kinins 量について, Sally ら²⁾, 竹谷⁶⁾, 水野⁷⁾など, また歯肉溝浸出液の kinins 量については, Kroeger ら¹⁰⁾, 水野⁷⁾などによると, 歯周病の進展増悪にともなって増加すると報告している。著者の実験成績においては, kinins 量は口腔清掃の停止 4~5 日後から全唾液, 歯垢および歯肉溝浸出液中にわずかながら測定でき, その後経目的に kinins 量は増加して口腔清掃の停止最終日 (11日目) に実験期間中の最高量に達した。しかし, 口腔清掃の開始後, 全唾液および歯肉溝浸出液中の kinins 量は急速に減少し, 3 日後遂に測定できなくなって。このことから, 口腔清掃が悪く, 歯垢がある程度堆積されると, 歯肉の局所とその環境に kinins が多く生成されるのか, kininase が抑制されて分解能が減少するのか分からないが, kinins が増加することは明らかである。

つぎに, kininase 活性値について, Sally ら²⁾, Amundsen ら³⁾, Tonzetich ら⁵⁾, 竹谷²¹⁾, 水野⁷⁾, 斉藤^{8,9)}など, また歯肉溝浸出液中の kininase 活性値については大森¹²⁾, 水野⁷⁾, 斉藤^{8,9)}などによると, 歯周病の進展増悪にともなって低下すると報告している。とくに, 水野⁷⁾, 斉藤^{8,9)}らなどによると, kininase 活性値は全唾液よりも歯肉溝浸出液の方が著明に低下すると報告している。さらに, 大森¹²⁾, 水野⁷⁾などによると, kininase 活性値は歯垢指数, 歯肉炎症指数および歯肉溝浸出液量とそれぞれ有意な相関性を示すと報告している。著者の実験成績においては, 口腔清掃の停止後から全唾液, 歯垢および歯肉溝浸出液中の kininase 活性値が経目的に低下し, 停止 4~6 日後から遂に測定できなくなった。しかし, 口腔清掃の開始 1~3 日後から全唾液および歯肉溝中の kininase 活性値は測定でき, その後経目的に上昇し, 5 日後には口腔清掃の停止直後 (1日目) の活性値に回復した。このことから, すでに kinins において述べたが, 口腔清掃が良いと, 歯肉の局所とその環境に kininase の活性が高くなるのか, kinins が生成されにくくなるのか分からないが, kininase が増加することは明らかである。

前述した Tzamouranis ら¹⁵⁾の実験によると, 歯肉溝洗滌液中の細胞外 cathepsin D 活性値は臨床症状の進展増悪よりやや遅れて次第に上昇するが, 歯肉溝洗滌液中の多核白血球数で cathepsin 活性値を除くと活性値は逆に低下すると報告している。炎症の化学的因子の一つである kinins とそれを分解する kininase は cathepsin と全く異質ものであるが, 著者の実験では, 口腔清掃の停止後全唾液, 歯垢および歯肉溝浸出液中の kininase 活性値は臨床症状の進展増悪とともに低下して, 4~6 日後には測定できなくなり, その代りに kinins が測定できるようになって臨床症状の進展増悪にともなって増加する。言い換えれば, kinins は歯肉炎症の発生や進展増悪に関与し, kininase は歯肉炎症の減退や消失に関与していることが明らかである。すなわち, kinins と kininase は全く相反する関係を示し, その動的平衡が何らかの原因によって破れると炎症が発生するのではないかと考える。

そもそも kinins は, その前駆物質である kininogen として生体内に存在しているが, 正常状態では遊離した kinins は測定できないほど少ないといわれている。腺組織中の kininogenase (kallikrein) が放出されるか, 血漿中の inactive kininogenase が Hageman 因子, その他によって活性化されると kininogen に働いて kinins が生成され, 生成された遊離 kinins は kininase によって不活性物質となるといわれている¹⁾。

全唾液, 歯垢および歯肉溝浸出液中には多種多様の物質が含まれている。この中に kinins の生成および分解に関与する因子も多いだろう。しかし, 直接生成に関与するものは kininogenase であり, また不活性化に関与するものは kininase である^{1,6)}。竹谷⁶⁾によると, 口腔内には多量の kininogenase が存在していると, また Erdös ら²⁹⁾, Amundsen ら^{3,4)}, 竹谷⁶⁾によると, 生成された遊離 kinins を不活性化する kininase は血清および全唾液中に存在するが, 純唾液中には存在しないと述べている。全唾液中に含まれている kininase 活性について, Amundsen ら^{3,4)}は, 口腔粘膜の扁平上皮細胞によるものであり, また Tonzetich ら⁵⁾は破壊細胞によるものであり, さらに竹谷⁶⁾は歯肉溝へ浸出する組織液によるものであって, 浸出液の血清成分の量と質によって決まると述べている。著者の実験成績から, 全唾液や浸出液中の kininase については, 前述の研究者の見解を十分に尊重する。その他に口腔清掃の停止によって先ず歯面に後天的なクチクラ層が生じ, それに酸によって沈澱したムコイド層が沈着する。その層に口腔常在

性の微生物が付着,増殖して菌垢が堆積形成される^{30,31)}。菌垢中にはムコイドや微生物の他に,微生物の産生物やそれによる分解産物など多種多様の物質が含まれている。これらの中に prekininogenase を活性化する Hageman 因子やその他 kininogen を活性化する kininogenase,遊離 kinins を分解する kininase などの物質が含まれていることが考えられる。さらに kininase は pH 6.5~6.0 で強く阻害されることから炎症局所では pH 6.0 程度にまで低下するので kinins が分解され難くなることが考えられる。また Hageman 因子は prekininogenase (perkallikrein) を活性化するばかりでなく,血液凝固系や線溶系のものを活性化するといわれている³²⁾。これらのことを考え合わせると,菌垢堆積によって菌垢内ばかりでなく,全唾液や歯肉溝浸出液に, pH の変化,糖や蛋白の分解,酸や酵素の生成などをおこし,その中には前述したような物質も含まれており, kininogenase や kininase を生成したり,あるいは,不活性化するのではないかと考える。勿論,その中には Erdős³²⁾, Peters³³⁾などの言う kininogenase や kininase 抑制物質も含まれている。

要するに,口腔清掃の停止による菌垢堆積によって歯肉の局所やその環境の kinins と kininase との動的平衡が破れ,そのために歯肉炎症の発生や進展をきたすものとする。

V. 結 論

著者は口腔清掃の停止(10日間)や開始(5日間)による菌垢指数,歯肉炎症指数および歯肉溝浸出液量の推移と全唾液,菌垢および歯肉溝浸出液中の kinins 量および kininase 活性値の推移について調べ,両者の関係について検討した。

その結果は次の通りである。

1. 菌垢堆積は口腔清掃の停止7日後にほぼピークに達し,その後余り変わらなかった。しかし,口腔清掃開始後,急速に減少した。

2. 歯肉炎症は口腔清掃の停止3~5日後に発生したものが多く,その後徐々に進展した。しかし,口腔清掃開始後,急速に減少消失した。なお,停止10日以内に歯肉炎症が全く発生しなかったものと,臨床的に軽度の歯肉炎が発生したものがあった。

3. 歯肉溝浸出液は口腔清掃の停止後から徐々に増加した。しかし,口腔清掃開始後,急速に減少した。

4. kinins 量は口腔清掃の停止5~6日後から測定で

き,その後次第に増加し,停止最終日(11日目)に実験期間を通じて最も増加した。しかし,開始後,急速に減少し,3日後に測定できなくなった。

5. kininase 活性値は口腔清掃の停止後次第に低下し,4~6日後に測定できなくなった。しかし,口腔清掃開始1~3日後に測定でき,その後,急速に上昇し,4~5日後に口腔清掃停止前の活性値に回復した。

以上のことから,口腔清掃の停止による全唾液,菌垢および歯肉溝浸出液中の kinins と Kininase の動的平衡が破れ,その推移は,臨床症状の推移,とくに菌垢堆積の推移に大きな影響を蒙ることが判明した。

終りに臨んで,終始ご指導とご校閲を頂いた恩師中静 正教授に深甚な謝意を表します。合わせて,本実験にご指導とご協力を頂いた大森 恒講師,試料採取にご協力を頂いた水野克己講師ならびに教職員各位に深く謝意を表します。

文 献

- 1) 鹿取 信:キニンの薬理とその生体における意義(前,中,後篇)生体の化学,21:446-478,1970,22:21-55,1971,22:102-132,1971.
- 2) Sally, C. and Nador, C.:Changes in the kallikrein contents of saliva under physiological circumstances and in periodontoclasia. J. Dent. Res., 29:232-236, 1950.
- 3) Amundsen, E. and Nustad, K.:Kininase activity of human saliva. Nature, 201:1226-1227, 1964.
- 4) Amundsen, E. and Nustad, K.:Kinin-forming and destroying activities of saliva. Brit. J. Pharmacol., 23:440-444, 1964.
- 5) Tonzetich, J., Eigen, E., Volpe, A.R. and Weiss, S.:Relationship of salivary kininase activity to periodontal status in human. J. Periodont Res., 4:118-126, 1969.
- 6) 竹谷和視:口腔内における plasma kinin の形成とその歯周病における病因的意義,歯界展望,35:1152-1156, 1970.
- 7) 水野克己:歯周疾患患者の全唾液および歯肉浸出液中の kinin 量と bradykininase 活性値について,日歯周誌,16:140-149, 1974.
- 8) 齊藤隆嗣,寺中敏夫,宮木克章,須田正文,中島正,岩本次男,高木 亨,齊藤 滋:口腔内炎症

- 関連酵素に関する研究 (2), 歯肉浸出液中の kallikrein 量について, 日歯保誌, 20 : 215, 1977.
- 9) 中島 正, 斉藤隆嗣, 須田正文, 宮本克章, 寺中敏夫, 岩本次男, 高木 亨, 斉藤 滋 : 口腔内炎症関連酵素に関する研究 (4), Kallikrein の動態について, 日歯保誌, 20 : 267, 1977.
  - 10) Kroeger, D.C. and Weatherred, J.G. : Plasma kinins and oral physiology. *Adv. in Oral Biol.*, 2 : 31-65, 1966.
  - 11) Rodin, H.A., Kaslick, R.S., Chasens, A.I., Ramazzotto, L.J. and Egitto, J. : Bradykinin activity in gingival fluid : A pilot study. *J. Dent. Res.*, 52 : 628, 1973.
  - 12) 大森 恒 : 歯周疾患における歯肉浸出液中の bradykininase 活性について, 日歯周誌, 16 : 3-10, 1974.
  - 13) Löe, H., Theilade, E. and Jensen, S.B. : Experimental gingivitis in man. *J. Periodont.*, 36 : 177-187, 1965.
  - 14) Theilade, E., Wright, W.H., Jensen, S.B. and Löe, H. : Experimental gingivitis in Man. *J. Periodont. Res.*, 1 : 1-13, 1966.
  - 15) Tzamouranis, A., Matthys, J., Ishikawa, I. and Cimasoni, G. : Increase of extracellular cathepsin D activity in gingival washings during experimental gingivitis in man. *Aach oral Biol.*, 22 : 375-378, 1977.
  - 16) Greene, J.C. and Vermillion, J.R. : The simplified oral hygiene index. *J.A.D.A.*, 68 : 7-13, 1964.
  - 17) Löe, H. and Silness, J. : Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odont. Scand.*, 21 : 533-551, 1963.
  - 18) Löe, H. The gingival index, the plaque index and the retention index system. *J. Periodont.*, 38 : 610-616, 1967.
  - 19) Mann, W.V. : The correlation of gingivitis pocket depth and exudate from the gingival crevice. *J. Periodont.*, 34 : 379-387 1963.
  - 20) Hara, K. and Löe, H. : Carbohydrate components of the gingival exudate. *J. Perioeont. Res.*, 4 : 202-207, 1969.
  - 21) 竹谷和視, 今村多恵, 加藤三枝子 : Glutathione および Trasyol を使った唾液-血清反応における kinin 形成および分解酵素活性の生物学的分離定量法, 愛院大歯誌, 5 : 187-202, 1967.
  - 22) 秋吉正豊 : 新編歯周治療学, 東京, 1977, 書林, 15-26.
  - 23) Greene, J.C. and Vermillion, J.R. : The oral hygiene index : A method for classifying oral hygiene status. *J.A.D.A.*, 61 : 172-179, 1960.
  - 24) Stammeyer, W.R. : A measure of tissue response to frequency of tooth brushing. *J. Periodont.*, 28 : 17-22, 1957.
  - 25) Stahl, S.S. : The effect of toothbrushing on the keratinization of the gingiva. *J. Periodont.*, 24 : 20-21, 1953.
  - 26) 大河原紳治 : 歯周疾患に対する歯ブラシ療法の研究 (第2報), 日本歯槽膿漏誌, 4 : 9-10, 1962.
  - 27) Egelberg, J. : Gingival exudate measurements for evaluation of inflammatory changes of the gingivae. *Odont. Rev.*, 15 : 381-398, 1964.
  - 28) Björn, A.L., Koch, G. and Lindhe, J. : Evaluation of gingival fluid measurements. *Odont. Rev.*, 16 : 300-307, 1965.
  - 29) Erdős, E.G., Sloane, E.M. and Wohler, I.M. : Carboxypeptidase in blood and other fluids I. *Biochem. Pharmacol.*, 13 : 893-905, 1964.
  - 30) Frank, R.M. and Brendel, A. : Ultrastructure of the approximal dental plaque and the underlying normal and carious enamel. *Arch. Oral Biol.*, 11 : 883-912, 1966.
  - 31) Leach, S.A. : Some observations on the state of sialic acid in human saliva. *Arch. Oral Biol.*, 9 : 461-467, 1964.
  - 32) Erdős, E.G. and Sloane, E.M. : An enzyme in human blood plasma that inactivates bradykinin and kallidins. *Biochemical Pharmacol.*, 11 : 585-592, 1962.
  - 33) Peters, R.A. and Wakelin, R.W. : The effect of some thiol compounds upon trypsin, chymotrypsin and chymotrypsinogen. *Biochem. J.*, 43 : 45-51, 1948.