歯周炎患者の全唾液中 thiol と揮発性硫化物について

佐 藤 春 海

東京歯科大学歯科保存学教室第Ⅱ講座

(指導：佐藤徹一郎教授)

(昭和55年3月20日受付)

Thiol and Volatile Sulphur Compounds in Whole Saliva of Periodontal Patients

Harumi SATO

Department of periodontics, Tokyo Dental College

(Director: Prof. Tetsuichiro SATO)

This investigation were performed to evaluate the relationship among thiol in incubated whole saliva and volatile sulphur compounds from incubated whole saliva and mouth air in three subjects groups. The subjects were divided into three groups based on clinical findings and intensity of odour by olfactory panel of trained judges, Group N: normal subjects, Group P-N: Periodontal patients without halitosis, Group P-H: periodontal patients with halitosis.

Volatile sulphur compounds from incubated whole saliva and mouth air were determined by gas chromatograph equipped with flame photometric detector and thiol in the supernatant of incubated whole saliva were determined by spectrophotometer.

Result were as flowed.

1) In periodotal patients, thiol in supernatant was detected prior to CH_3SH from incubated whole saliva, although they increased with time thereafter, there was 12~18 hours' difference in the time of their reaching their maximun quantity.

2) The thiol in the supernatant of incubated whole saliva and the methyl marcaptan produced from whole saliva from periodotal patients were of greater quantity than those from the normal. Furthermore Group P-H produced remarkably greater amount of thiol and methyl mercaptan than Group P-N. Also, in Group P-H a close correlation was confirmed between the highest values of the quantities of thiol and methyl mercaptan produced from incubated whole saliva.

3) Obvious relationship was observed between the methyl mercaptan content in mouth air and the highest values of that produced from the incubated whole saliva.

4) In the periodotal patients, whereas no correlation was observed between the quantity of metyl mercaptan produced from the incubated whole saliva and P.I., there were a slight the correlation between pocket depth or bleeding and that, and a close correlation of that between discharge of pus and that. However, it was difficult to determine the correlation with G.I. coefficients being $r=0.51$.

I 緒 言

口臭は慢性辺緑性菌周炎（以下菌周炎と略す）の臨床症状の一つとして古くから認識され、この場合の原因は歯牙沈着物^{1,2)}、唾液の腐敗^{3,4)}、血液成分、食物残渣や口腔軟組織の慢性炎症⁵⁾などが示唆されてきた。また、口臭の臭気成分としてはエタノール、メタノール、アセトン^{6,7)}などの有臭物質や蛋白分解産物であるアミン、インドール、硫化物^{9,10)}などが検出されている。

特に口臭に対する硫化物の役割りが近年報告されはじめ、その研究も比較的多数見い出せる。Richter 等¹¹⁾は悪臭を有する腐敗唾液のヘッドスペース中から硫化水素 [H₂S]、メチルメルカプタン [CH₃SH]、ジメチルサルファイド [(CH₃)₂S]、などの揮発性硫化物 (Volatile Sulphur Compound 以下 V.S.C. と略す)を検出し、これらと口臭との関連性を指摘した。

その後、硫黄化合物に選択的かつ高感度を示す炎光光度検出器 (Flame Photometric Detector 以下 F.P.D. と略す)が開発されるに至り、口腔内気体中 V.S.C. の検出が可能となった¹²⁾。さらに、F.P.D. を備えたガスクロマトグラフを応用し、パネル評価により口臭を有すると判定された患者の口腔内気体から高濃度の V.S.C. が検出され¹³⁾、そのいき濃度や嫌悪性などから CH₃SH が口臭の強さと最も密接な相関性を示すことが確認された¹⁴⁾。

また、これら V.S.C. の発生機序についても検討が加えられており、Tonzetich 等^{15,16)}は全唾液の incubate を行ない唾液上清と比較して、白血球や剝離上皮細胞などの細胞成分が主体である唾液沈渣からは、より高濃度の V.S.C. が産生された実験成績を得た。これらの成績から V.S.C. の産生は全唾液中の細胞成分の破壊によるものと推論した。そして、incubate 全唾液中の disulphide と thiol の定量実験を行った結果、まず細胞成分の崩壊に伴って disulphide が遊離し、さらに thiol へと還元され、その後 V.S.C. が産生されると結論づけ

た¹⁷⁾。しかし、同一試料における thiol 量と V.S.C. 量の経時的変動については未だ明らかにされていない。

一方、菌周炎臨床所見の一つとして考えられている口臭が、他の臨床所見と如何なる相関性を示すかを検討した報告は比較的少ない。海津¹⁴⁾は口臭の強さと菌齦炎症指数との間に強い相関性を認めたが、盲嚢の深さとの間には相関性が認められなかったと報告している。しかし、Tonzetich 等¹⁸⁾は口腔内気体中の V.S.C. と盲嚢の深さとの間には相関性が認められたとしている。また、奈良¹⁹⁾は盲嚢からの排膿や出血程度が口臭の強さに関与していると報告している。このように各報告に差がみられ、未だ明確ではない。

そこで著者は健康者、口臭の無い菌周炎患者および口臭を有する菌周炎患者について口臭の強さと最も密接な相関性を有し、V.S.C. の指標ともいえる口腔内気体中の CH₃SH 量を測定するとともに、同一被検者について、個々の全唾液を incubate し、産生される thiol 量と CH₃SH 量を経時的に測定した。さらに、得られた成績と他の臨床所見、ならびに口臭の強さとの関連性についても検討を加え、興味ある結果を得たので報告する。

II 実験方法

1. 被検者の構成

本実験に採用した被検者は全身的な疾患がないと診断された年齢14歳から60歳までの男性16名、女性14名からなり、これらを表1に示すごとく3群に構成した。

また各被検者の口臭有無の判定は日本環境衛生センターの嗅覚スクリーニング試験に準じて採用した5名のパネルにより行い、3名以上の一致で決定した。

なお本実験を行う前に全唾液中の thiol 量とそれより産生される CH₃SH 量の経時的変動を明らかにする目的で上記の3群の他に1群を設けた。すなわち同一被検者より短時間に多量の全唾液を採取することが困難であるため、P-N 群、P-H 群より各2名づつ合計4名を無作為に選んで被検者とし、再現性を確認するために、同様

表 1 Composition of experimental groups

Normal subjects	Group N n=10
Periodontal patients without halitosis	Group P-N n=10
Periodontal patients with halitosis	Group P-H n=10

の実験を3回行った。

2. 全唾液の採取法

各被検者より無刺激下に流出する全唾液約 10 ml を午前10時に採取し、そのうち 1 ml は密封性の高い横穴付試験管 (15 mm×120 mm) に入れ、CH₃SH 測定用とし、残り 9 ml を thiol 測定用とし、直ちに定温培養器 (いすゞ FR-12 B.S. タイプ) に入れ、37°C にて incubation を行った。

3. 歯周炎臨床所見

全唾液採取直後に各被検者について歯周炎の臨床所見に関する診査を行った。その項目と方法は以下に示すごとくである。

a 歯齦炎症指数 (G.I.): Löe and Silness²⁰⁾ の Gingival Index を採用した。

b 盲嚢の深さ: 各歯牙について木村式盲嚢測定器にて6点計測を行い、最深部を各歯牙の測定値とし、その平均値を mm で表示した。

c 口腔清掃状態 (P.I.): Quigley and Hein²¹⁾ の Plaque Index を採用した。

d 出血: 歯齦縁部の内外側からの双合診によって、4段階に分類した。全く出血しないもの: 0, 強い圧迫で出血するもの: 1, 弱い圧迫で出血するもの: 2, 自然出血傾向を示すもの: 3とした。

e 排膿: 歯齦縁部の内外側からの双合診によって、3段階に分類した。全く排膿の認められないもの: 0, 強い圧迫で排膿するもの: 1, 弱い圧迫で排膿するもの: 2とした。

4. CH₃SH の測定法

CH₃SH の測定には F.P.D. を備えた日立 063 型ガス

クロマトグラフを使用し、硫黄化合物検出用として 394 nm の狭帯域透過フィルター (干渉フィルター) を用いた。また分離度およびテーリングの有無などの特性からカラムは 30% DOP を酸・シラン処理を施した 60/100 mesh の Chromsorb W にコーティングしたものを使用しガスクロマトグラフの操作条件は表 2 に示すごとくとした。さらにガスクロマトグラフに直結したインテリジェントインテグレーター Model 500 A [SIC 社製] を用いてピーク面積より CH₃SH 量を定量した。

口腔内気体中の CH₃SH の測定は約 37°C に加温したガスタイトシリンジにて口腔内気体 5 ml を一端をパラフィルムにて密封したキャピラリーチューブを穿通して採取し、直接呼気導入法²²⁾にて行った。

全唾液より産生される CH₃SH 量の測定は、試験管上部の横穴より約 37°C に加温したガスタイトシリンジにてヘッドスペース中の気体 0.5ml を採取し、直ちにガスクロマトグラフに導入し、行った。なお測定時刻は表 3 に示すごとくとした。しかし全唾液中の thiol 量とそれより産生される CH₃SH 量の経時的変動を明らかにするために設けた 1 群での測定時刻は incubate 後 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 28時間の計 9 回とした。

また CH₃SH の検量線は悪臭物質試験用 CH₃SH 1 µg/µl (ベンゼン溶液: 和光純薬工業社製) をベンゼン稀釈し、マイクロシリンジにて直接導入し、得られたピーク面積より作製した。(図 1)

5. Thiol の測定法

Thiol の測定には微量な試料でも測定可能であり、かつ測定に用する時間が短いという利点を有する

表 2 Analytical condition for volatile sulphur compounds by gas chromatograph

Column	30% DOP teflon 7m
Column Temp	70°C
Injection Temp	120°C
FPD Temp	notch:7
Carrier Gas N ₂	40ml/min
H ₂	80ml/min
O ₂	20ml/min
N ₂	20ml/min
Sample Size	5ml mouth air
	0.5ml head space above incubated whole saliva
Photomul Voltage	750 V
Optical Filter	394nm
Chart Speed	5mm/min
Attenuation	10 ² ×256

表 3 Experimental time after incubation (hour)

Methyl mercaptan	2	4	6	8	10	12	24
Thiol		4		8		12

図 1 Calibration curve of methyl mercaptan

Ellman の方法²³⁾を採用した。本実験における thiol 測定法は以下に示すごとくとした。

1 ml (全唾液を 1500×g, 10 分間遠沈処理した上清液 1 ml)

+

0.1 ml Tris buffer 1.0M PH 8.1 (SIGMA 社製)

+

0.1 ml D.T.N.B. (5-5'-di-thio-bis-2-nitro-benzonic acid : 和光純薬工業社製)

+

1.8 ml Distilled water

λ max 420 nm にて比色

比色計 : 日立 model 200-20 ダブルビーム分光光度計

全唾液を遠沈処理を行わないで直接測定することは、

細胞成分による光の散乱などを招き、測定誤差が大きいため、今回は遠沈上清を試料とし thiol の測定を行った。なお測定時刻は表 3 に示すごとくとしたが、他に設けた 1 群については、その CH₃SH 量の測定時刻と同様に、incubate 後 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 28 時間とした。

また thiol の検量線を作製するための標準物質は還元型 Glutathione (和光純薬工業社製) を使い、distilled water にて希釈し、吸光度より図 2 に示すごとく作製した。

III 実験成績

1. 全唾液中 thiol 量と CH₃SH 量の経時的変動について

Incubate を行った全唾液上清中の thiol 量と全唾液より産生される CH₃SH 量の経時的変動は表 4 に示すごとくであり、thiol は incubate 後 4 時間以内に検出され、その量は漸次増大し、最高値に達するのは incubate 後 4 時間から 16 時間であり、その後は漸次減少した。一方、CH₃SH は incubate 後 4 時間から 8 時間の間に検出され、その量は漸次増大し、最高値を示すのは incubate 後 16 時間から 28 時間の間であり、その後は減少傾向が認められた。なお 3 回の実験結果の代表例をグラフに表わしたものが図 3 である。

2. 各群における全唾液中の thiol と CH₃SH について

表 5 に示すごとく N 群では incubate 後 24 時間以内に

図 2 Calibration curve of thiol

表 4 Progressive changes of thiol and methyl mercaptan

		(ng)								
incubation time (hr,)		2	4	6	8	12	16	20	24	28
1	Thiol	0	429	561	726	858	594	495	462	297
	Methyl mercaptan	0	0	0	4.3	5.6	20	22	27	25
2	Thiol	198	264	396	165	145	148	132	105	99
	Methyl mercaptan	0	2.3	3.8	6.0	5.3	7.9	13.2	27	24
3	Thiol	660	858	1155	1254	1122	1237	1221	429	198
	Methyl mercaptan	0	0	0	6.3	14.2	25	35	34	33

図 3 Progressive changes of thiol and methyl mercaptan

はいずれの被検者よりも thiol ならびに CH₃SH は検出されなかった。さらに48時間まで CH₃SH の測定を試みたが検出されなかった。

P-N 群の成績は表6に示すごとく、いずれの被検者よりも12時間以内では thiol は検出されなかった。しかし CH₃SH は10例中8例において incubate 後24時間に微量ながら検出され、その平均値は 5.83 ng であり、その代表的ガスクロマトグラムは図4に示すごとくである。

P-H 群の成績は表7に示すごとく、thiol は全例において incubate 後4時間以内に検出され、最高値も1例を除いて8時間ないし12時間後に認められた。また CH₃SH も10例中7例までが incubate 後6時間以内に検出され、他の3例についても8時間ないし10時間後までに検出された。代表的なガスクロマトグラムは図5に示すごとくである

また P-H 群各被検者における全唾液中 thiol 量の最高値と全唾液より産生された CH₃SH 量の最高値との間には図6に示すごとく相関係数0.80で相関性が認めら

表 5 Progressive changes of thiol and methyl mercaptan in group N

		(ng)							
incubation time (hr,)		2	4	6	8	10	12	24	
1	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	
2	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	
3	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	
4	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	
5	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	
6	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	
7	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	
8	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	
9	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	
10	Thiol		—		—		—		
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—	

れた。

3. 全唾液より産生される CH₃SH と口腔内気体中の CH₃SH について

全唾液より産生される CH₃SH 量の最高値と P-H 群における各被検者の口腔内気体中 CH₃SH 量は表8に示すごとく、口腔内気体中の CH₃SH が多く認められる被検者ほど全唾液より産生される CH₃SH 量も多く認めら

表 6 Progressive changes of thiol and methyl mercaptan in group P-N

		(ng)						
incubation time (hr,)		2	4	6	8	10	12	24
1	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	2.7
2	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—
3	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	6.8
4	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	4.1
5	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	—
6	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	1.5
7	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	7.2
8	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	1.5
9	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	16
10	Thiol		—		—		—	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	—	—	7.2

図 4 Typical gas chromatogram of V.S.C. from incubated whole saliva in group P-N

IV 考 察

唾液中の硫黄化合物については thiocyanate の抗菌作用などに関する Fishmann 等²⁴⁾や Klabanolf 等²⁵⁾の報告などが古くから見られるものの、V.S.C. を産生するために必要とされる含硫アミノ酸に関するものは少なく²⁶⁾、cystine や methionine の含有率も 0.45~0.05 mg%以下と言われ²⁷⁾、新鮮全唾液中の含硫アミノ酸は極めて少ないとされている。しかし Gibson²⁸⁾や Silleviss-Smith 等²⁹⁾は全唾液中に認められる剝離上皮細胞中には disulphide や thiol の存在を確認し、さらに Barnett³⁰⁾は白血球中にも thiol の存在を報告している。さらに全唾液中にはこれら剝離上皮細胞数は $6.2 \times 10^5 / \text{cm}^3$ ³¹⁾、白血球数は $25 \sim 30 \times 10^5 / \text{cm}^3$ ³²⁾ 程度存在すると言われ、これら細胞成分が唾液沈渣物の 99% 以上を占めると言われている³¹⁾。これらの報告から剝離上皮細胞や白血球に代表される細胞成分の崩壊に伴って多量の disulphide や thiol が産生されることが推論された。

そこで Tonzetich¹⁵⁾は全唾液の incubate を行って全唾液中の白血球や剝離上皮細胞などの細胞成分の崩壊

れた。そこで両者の相関性を検討した結果、図 7 に示すごとく相関係数 0.68 で相関性が認められた。

4. P-N 群と P-H 群の歯周炎臨床所見について

歯周炎各臨床所見について P-N 群と P-H 群との間の有意差を検討した結果、表 9 に示すごとく G.I. 盲嚢の深さ、P.I.、出血、排膿、ともに危険率 1% 以内 ($P < 0.01$) で有意な差が認められ、明らかに P-H 群は P-N 群に比較し高度の歯周炎症状を呈していた。

5. 全唾液より産生される CH_3SH と歯周炎臨床所見との関係について

P-N 群、P-H 群合計 20 名の各被検者の G.I. 盲嚢の深さ、P.I. 出血、排膿と全唾液より産生される CH_3SH 量の最高値との間の相関性を検討した結果、図 8 に示すごとく排膿との間に強い相関性認められ、盲嚢の深さおよび出血との間には弱い相関性が認められた。G.I. については相関係数 0.51 であり、どちらも判定がつかず、P.I. との間には相関性が認められなかった。

表 7 Progressive changes of thiol and methyl mercaptan in group P-H

(ng)

incubation time(hr.)		2	4	6	8	10	12	24
1	Thiol		693		660		627	
	Methyl mercaptan	—	10	14.5	28	31.5	29	26
2	Thiol		148.5		825		363	
	Methyl mercaptan		微量	10	18.5	28.5	31	36.5
3	Thiol		1221		1380		1155	
	Methyl mercaptan	—	2.3	13	24	31	33	30
4	Thiol		1386		2409		2475	
	Methyl mercaptan	微量	16.5	29	33	52	56	65
5	Thiol		181.5		1419		1382	
	Methyl mercaptan	—	—	—	8.5	18	24	23
6	Thiol		165		693		627	
	Methyl mercaptan	—	—	—	—	微量	22	27
7	Thiol		198		1122		924	
	Methyl mercaptan	—	—	1.2	14	28	33	41
8	Thiol		495		952		1089	
	Methyl mercaptan	—	—	1.9	4	5.4	30	33.5
9	Thiol		429		1320		1419	
	Methyl mercaptan	—	—	—	微量	2.7	31	42
10	Thiol		330		495		825	
	Methyl mercaptan	—	—	6.7	10	20.5	25	28

に伴って産生されると考えられる disulphide と thiol の測定を行った。その結果、多量の disulphide と thiol が産生されることを明らかにし、さらに高濃度の V.S.C. が認められたと報告している。これらの報告より全唾液中の細胞成分が破壊され、まず disulphide が遊離され、さらに thiol へと還元され、その後に V.S.C が産生されると考えられる。しかしながら thiol 量と V.S.C. 量の経時的変動や口臭との関連性については未だ明らかにされていない。

今回、著者はまず両者の経時的変動をより明らかにすることを目的として、唾液の腐敗が強く起こると考えられている歯周炎患者³³⁾を被検者として全唾液の incubate を行い、thiol 量と V.S.C. 量の経時的変動を検索した結果、表 4 に示すような成績が得られた。Thiol 量と V.S.C. の指標とした CH₃SH 量は12時間から18時間の時間差をもって同じような変動を示した。また本実験時間内ではN群および P-N 群において thiol は検出され

表 8 Methyl mercaptan from mouth air and incubated whole saliva

(ng)

		CH ₃ SH from mouth air	CH ₃ SH from whole saliva			CH ₃ SH from mouth air	CH ₃ SH from whole saliva
N 群	1	—	—	P-H 群	6	—	1.5
	2	—	—		7	—	7.2
	3	—	—		8	—	1.5
	4	—	—		9	—	1.6
	5	—	—		10	—	7.2
	6	—	—		1	2.5	31.5
	7	—	—		2	5.6	36.5
	8	—	—		3	5.5	33
	9	—	—		4	5.8	65
	10	—	—		5	2.1	24
P-N 群	1	—	2.7	P-H 群	6	2.3	27
	2	—	—		7	4.1	41
	3	—	6.8		8	2.8	33.5
	4	—	4.1		9	3.5	42
	5	—	—		10	2.6	28

なかったため、P-H 群においてのみ thiol と CH₃SH の最高値量の相関性を検討した結果、図 6 に示すごとく両者の間に明らかな相関性が認められた。これらの成績から thiol が V.S.C. の前駆物質であると推論されるとともに、唾液の腐敗程度は唾液中 thiol 量の多少により判定することも可能であると考えられる。また追加実験として、細胞成分が少ないとされる成人の耳下腺唾液³⁴⁾と無菌顎患者³⁵⁾および対照群であるN群の全唾液をそれぞれ incubate し、thiol と V.S.C. の測定を行った。その結果、いずれの全唾液よりも thiol, CH₃SH とともに検出されなかった。この追加実験の成績からも V.S.C. は細胞の崩壊に伴って産生される thiol に由来するという推論を明確に裏づけることができた。

また従来、歯周炎の進行に伴って口臭が強くなると報告されており³⁶⁾、その主体が V.S.C. であることも実証されている¹²⁻¹⁴⁾。しかし口臭の無い歯周炎患者と口臭の有る歯周炎患者では全唾液中 thiol 量、それより産生さ

図 5 Typical gas chromatogram of V.S.C. from incubated whole saliva in group P-H
1: H_2S 2: CH_3SH 3: $(\text{CH}_3)_2\text{S}$

図 7 Relation between methyl mercaptan from whole saliva and from mouth air in group P-H

れる V.S.C. や臨床所見にどのような差があるのかは未だ不明である。そこで P-N 群と P-H 群に分けて全唾液より産生される thiol 量と V.S.C. 量さらに歯周炎の各種臨床症状について検索した結果、P-N 群は P-H 群に比較して thiol ならびに V.S.C. の産生は極めて少量であり、そのうえ、両群の差は極めて大きいことが明らかとなった。また口腔内の歯周炎臨床症状も表 9 に示すように P-N 群は P-H 群に比較して明らかに軽度であった。すなわち口臭のみられない軽度な歯周炎患者の全唾液中の thiol や V.S.C. 産生能は極めて小さいことが明らかとなった。

さらに口腔内気体中の CH_3SH 量と全唾液より産生される CH_3SH 量の最高値との間に相関性が認められたことから、口臭は唾液の腐敗によって産生されたとした Low 等³⁾や Berg 等⁴⁾の成績をより科学的手段で証明できた。

また P-N 群と P-H 群における歯周炎臨床所見の間に明らかな差が認められたものの、その差を考慮しても全唾液よりの thiol 量と V.S.C. 量に極めて大きい差が認められた。これらの成績から、口臭の強さと全唾液中の thiol 量や V.S.C. 量は単に歯周炎の程度に相関性があるという従来の説は妥当性を欠くと思われる。口臭、すなわち全唾液の腐敗は歯周炎の進行がある程度を越えないと起こりにくいと推論される。しかし軽度な歯周炎

図 6 Relation between methyl mercaptan from whole saliva and thiol in whole saliva in group P-H

表 9 Periodontal score

	Gingival index	Plaque index	Pocket depth	Bleeding	Pus discharge
Group P-N	5.78±1.09	5.09±1.78	3.32±0.66	0.59±0.25	0.14±0.12
Group P-H	7.75±1.42	7.18±1.45	5.41±1.33	1.17±0.30	0.62±0.18

図 8 Relation between methyl mercaptan content from whole saliva and clinical findings in group P-N and group P-H

患者においても口臭が認められることも稀にはあり、この場合は唾液の流出量、口腔内の各種急性ないし亜急性炎症さらに各種全身的疾患などの影響も考えられる。また thiol や disulphide の毒性については古くから、細胞ミトコンドリアの膨化³⁷⁾、細胞分裂や酸素呼吸の阻害^{38) 39)}などが報告され、Tonzetich⁴⁰⁾は $[^{35}\text{S}]\text{-H}_2\text{S}$ を使用して ^{35}S が上皮細胞と容易に結合すると述べている。これらのことから盲嚢内に thiol や disulphide が多く産生されると盲嚢上皮は容易に破壊され、その結果、細菌毒素はもちろん細菌そのものの組織内侵入を容易にし、さらに下部の結合組織にまで炎症が波及し、一層の歯周組織の破壊を引き起こすことが考えられる。

これまで歯周炎と口臭に関する報告は数多くみられるが、歯周炎の各臨床所見と口臭との相関性に言及している報告は少ない。その理由は、いずれの歯周炎臨床所見も、口臭との相関性を疑うには十分な根拠があるにもかかわらず、歯周炎の進行に伴って必ずしも口臭が強くなるとは限らないという臨床的矛盾が存在するためと考えられる。そこで図6に示した成績から、incubate 全唾液より産生される CH_3SH 量を口臭の強さを表わす測定値と考え、歯周炎患者全員をその対象として、歯周炎臨床所見との相関性を検討した。その結果、incubate 全唾液より産生される CH_3SH と P.I. の間には相関性が認められなかったが、盲嚢の深さと出血との間には弱い

相関性が認められた。しかし排膿との間には強い相関性が認められた。また G.I. との間には相関係数 0.51 であり、判定困難であった。しかし海津¹⁴⁾は口腔内気体中 CH_3SH と G.I. との間には明らかな相関性が認められたが、盲嚢の深さとの間には相関性が認められなかったと報告している。また Tonzetich 等¹⁸⁾は口腔内気体中の V.S.C. と 3 mm を越えた盲嚢の深さとの間には密接な相関性が認められると述べている。さらに Horowitz⁴¹⁾等は酢酸鉛紙を盲嚢内に挿入し、硫化鉛の産生量より盲嚢内の H_2S 産生能を検索した結果、盲嚢の深い患者の盲嚢底部に強い H_2S 産生能を認めている。同様に Nolte⁴²⁾も浅い盲嚢よりも深い盲嚢部に、より大きな V.S.C. 産生能を観察している。このように各研究者の成績に隔たりがみられる最大の理由は選択された被検者の差によるものと考えられる。すなわち本実験では口臭のある歯周炎患者と口臭のない歯周炎患者の 2 群全員を被検者にしたのに対し、海津は口臭のある歯周炎患者のみを対象としている。さらに Tonzetich や Nolte は歯周炎臨床所見として盲嚢の深さのみについて検討しているにすぎない。しかし本実験では口臭の強さを全唾液より産生される CH_3SH 量として判定し、さらに多項目にわたる歯周炎臨床所見との比較を行った。従って、本実験は前述の各種研究の欠点を補ったものと考えられる。口臭すなわち incubate 全唾液中より産生される V.S.C. 量は盲嚢由来の細胞成分の影響を強く受けているものと推論された。

以上のことから歯周炎に罹患すると軽度では口臭や incubate 全唾液よりの thiol, V.S.C. は極めて少ないものの、歯周炎の進行がある程度を越えると、それらの量は急激に増大し、同時に産生された thiol や disulphide がさらに歯周組織に対し為害作用をおよぼし、歯周炎が一層増悪されるものと考えられる。

V 結 論

口臭のない歯周炎患者：P-N 群、口臭のある歯周炎患者：P-H 群の全唾液を採取、混合し、incubate を行い、それより産生される methyl mercaptan と上清中 thiol の動態をガスクロマトグラフと分光光度計により経時的に観察した。さらに P-N 群、P-H 群および健康者：N 群それぞれの各被検者についても同様の検索を行った。また、これらから得られた成績と各歯周炎臨床所見、ならびに口臭の強さとの関連性についても検討を加えた。

1. 歯周炎患者における incubate 全唾液の上清中 thiol は V.S.C. に先行して検出され、その後ともに経時的に上昇したが、両者の最高量の時間差は 12 時間から 18 時間であった。

2. 歯周炎患者は健康者に比べ incubate 全唾液上清中 thiol ならびに全唾液より産生される methyl mercaptan 量は多く、さらに P-H 群は P-N 群に比較し著しく多量の thiol と methyl mercaptan を産生した。また P-H 群では thiol と methyl mercaptan 量の最高値間には密接な相関性が認められた。

3. 口腔内気体中 methyl mercaptan 量と incubate 全唾液より産生される methyl mercaptan 量の最高値との間には明らかな相関性が認められた。

4. 歯周炎患者の incubate 全唾液より産生される methyl mercaptan 量と P.I. とは相関性が認められず、盲嚢の深さと出血との間には弱い相関性が認められ、排膿との間には密接な相関性が認められた。しかし G.I. については相関係数 0.51 で判定困難であった。

稿を終了にあたり、暖かい励ましのお言葉を賜った前本学保存学教室第Ⅱ講座主任 木村吉太郎名誉教授ならびに終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った保存学教室第Ⅱ講座主任 佐藤徹一郎教授に心より感謝の意を捧げると共に、種々なる御援助、御助言を戴いた保存学教室 角田正健講師ならびに 海津健樹講師に深甚なる謝意を表します。また、本研究に御協力下さった東京歯科大学保存学教室第Ⅱ講座教室員各位に感謝する次第であります。

文 献

- 1) Sulser, G.E., Lesney, T.A. and Fosdick, L.S. : The reduction of breath and mouth odors by means of brushing of teeth. J. dent. Res., 19; 173-177, 1940.
- 2) Morris, P.P. and Read, P.R. : Halitosis : Variation in mouth and total breath odor intensity resulting from prophylaxis and antisepsis. J. dent. Res., 28; 324-333, 1949.
- 3) Low, D.B., Berg, M. and Fosdick, L.S. : Chemical studies on periodontal disease. I. J. dent. Res., 22; 373-379, 1943.
- 4) Berg, M., Burrill, D.Y. and Fosdick, L.S. : Chemical studies in periodontal disease. IV. Putrefaction rate as index of periodontal disease. J. dent. Res., 26; 67-71, 1947.
- 5) Massler, M., Emslie, R.D. and Bolden, T.E. :

- Fetor ex ore, *Oral Surg.*, 4 ; 110-125, 1951.
- 6) Weber, T.B. and Rhoades, J.W. : Detection of trace constituents in oral fluids by gas chromatography. *J. dent. Res.*, 40 ; 750, 1960.
 - 7) Ericksen, S.P. and Kulkarni, A.B. : Methanal in normal human breath. *Science*, 141 ; 639-640, 1963.
 - 8) Larsson, B.T. : Gas chromatography of organic volatiles in human breath and Saliva. *Acta. chem. scand.*, 19 ; 159-164, 1965.
 - 9) 田村 陽, 高添一郎 : 口臭の細菌学的・化学的研究. *口腔衛生誌*, 5 ; 11~12, 1965.
 - 10) Persky, M.S. and Billy, M.C. : Recherches sur les dégagées par les anaérobies. *Ann. Inst. Pasteur*, 103 ; 461-464, 1962.
 - 11) Richter, V.J. and Tonzetich, J. : The application of instrumental technique for the exalution of odoriferous volatiles from Saliva and breath. *Arch. oral Biol.*, 9 ; 47-53, 1964.
 - 12) Tonzetich, J. : Direct gas chromatography in month air in man. *Arch. oral Biol.*, 16 ; 587-597, 1971.
 - 13) 角田正健 : 口臭患者呼気のカスクロマトグラフィによる分析. *日歯周誌*, 17 ; 1~13, 1975.
 - 14) 海津健樹 : ガスクロマトグラフィーによる口腔内揮発性硫化物の分析. *日歯周誌*, 8 ; 1~12, 1976.
 - 15) Tonzetich, J. and Richter, V.J. : Evaluation of volatile odoriferous compounds of saliva, *Arch. oral Biol.* 9 ; 39-45, 1964.
 - 16) Tonzetich, J. and Kestenbaum, R.C. : Odour production by human salivary fractions and plaque. *Arch. oral Biol.*, 14 ; 815-827, 1963.
 - 17) Tonzetich, J. and Johnson, P.W. : Chemical analysis of thiol, disulphide and total sulphur content of human saliva. *Arch. oral Biol.* 22 ; 125-131, 1977.
 - 18) Tonzetich, J. and Spouge, J.D. : Effect of Periodontal therapy on volatile sulphur content of mouth air ; I.A.D.R. program and Abstract 327 ; P-195.
 - 19) 奈良文雄 : 口臭と歯周病患者における口腔内所見との関係. *日歯周誌*, 19 ; 100~108, 1977.
 - 20) Löe, H. and Silness, J. : Periodontal disease in pregnancy, I. Prevalence and severity. *Acta odont. scand.*, 21 ; 533-551, 1963.
 - 21) Quigley, G.A. and Hein, J.W. : Comparative cleansing efficiency of manual and power brushing. *J. Amer. dent. Ass.* 65 ; 26-29, 1962.
 - 22) 青木栄夫 : 口腔内有機揮発物質のカスクロマトグラフィによる分析. *日歯周誌*, 11 ; 3~19, 1970.
 - 23) Ellman, G.L. : Tissue sulphydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82 ; 70-77, 1959.
 - 24) Fischmann, E.J. and Fischmann, A. : The thiocyanate content of saliva in normal and hypertensive subjects before and after ingestion of the drug. *J. Lab. Clin. Med.*, 33 ; 772-776, 1948.
 - 25) Klebanoff, S.J. and Luebke, R.J. : The antitactobacillur system of saliva role of salivary peroxidase. *Proc. Sac. exp. Biol. Med.*, 118 ; 483-486, 1965.
 - 26) Battistone, G.C. and Burnett, G.W. : The free amino acid composition of human saliva. *Arch. oral Biol.* 3 ; 161-170, 1961.
 - 27) Kirch, E.R., Kesel, R.G., O'Donnell, J.F. and Wach, E.C. : Amino acid in human saliva. *J. dent. Res.* 26 ; 297-301, 1947.
 - 28) Gibson, W.A. and Shanann, I.L. : Reductase activity and sulphydryls in the dehydrogenase histochemistry of human gingiva. *Periodontics.* 3 ; 275-280, 1965.
 - 29) Sillevis-Smitt, P.A.E. and James, J. : A quantitative cytophotometric study of protein-bound sulphydryl group in human palatal cell under experimental prosthetic condition. *Arch. oral Biol.* 15 ; 1133-1142, 1970.
 - 30) Barrnett, B.J. : The histochemical distribution of protein-bound sulphydryl group. *J. natn. Cancer. Inst.* 13 ; 905-925, 1953.
 - 31) Eichel, B. and Lisanti, V.F. : Leucocyte metabolism in human saliva. *Arch. oral Biol.* 9 ; 299-314, 1964.
 - 32) 内田武志, 菊地貞介, 宋 磨美, 吉賀純子, 二宮順二, 穴村伸一, 岡本 真 : 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*, 18 ; 406~413, 1976.
 - 33) Fosdick, L.S. and Piez, K.A. : Clinical studies in periodontal disease X Paper chromatographic

- investigation of the putrefaction associated with periodontitis. *J. dent. Res.*, 32 ; 97-100, 1953.
- 34) Wright, D.E. : The source and disintegration rate of leukocytes in saliva from caries-free and caries-active subjects. *Brit. dent. J.* 160 ; 278-280, 1959.
- 35) Wright, D.E. : Leucocyte in the saliva of edentulous and caries-free and caries-active subjects. *Arch. oral Biol.*, 7 ; 581-585, 1962.
- 36) 木村吉太郎, 篠田 登, 青木栄夫, 浦井照彦 : 歯槽膿漏患者が有する口臭に応用した Flagyl (Metronidazole) の臨床効果. *歯科学報*, 70 ; 1465~1468, 1970.
- 37) Neubert, D. and Lehninger, A.L. : The effect of thiol and disulfides on water uptake and extrusion by rat liver mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 237 ; 952-958, 1962.
- 38) Lelièvre, P. : Action de la cystamine sur la consommation d'oxygène la phosphorylation couplée des mitochondria d'organes de Rat. *C.R. Soc. Biol., Paris*, 157 ; 693, 1963.
- 39) Eldjan, L. and Bremer, J. : The disulphide-reduction capacity of liver mitochondria. *Acta. chem. scand.*, 17 ; 59-66, 1963.
- 40) Tonzetich, J. and Lo, K.K.C. : Reaction of hydrogen sulphide with proteins associated with the mouth air. *Arch. oral Biol.*, 23 ; 875-880, 1978.
- 41) Horowitz, A. and Folke, L.E.A. : Hydrogen sulfide production in the periodontal environment. *J. periodont.*, 44 ; 390-395, 1973.
- 42) Nolte, W.A. : *Oral Microbiology*, 2nd edition Saint Louis, 1973, The C.V. Mosby Company, 84.
-