歯周ポケット滲出液中の Estradiol-17 β 量と臨床所見について

辻 康 雄

日本大学歯学部歯周病学教室

(指導：村井正大教授)

(昭和63年3月15日受付)

Evaluate Estradiol-17 β in Gingival Crevicular Fluid and their Clinical Parameter

Yasuo TSUJI

Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry

(Director : Prof. Seidai MURAI)

The purpose of this study was to evaluate the effect of Estradiol-17 β (E_2) on periodontal disease. Before collecting Gingival Crevicular Fluid (GCF), a clinical periodontal examination (Pocket Depth, Gingival Index, Gingival Bleeding Index, Plaque Index) was performed on the upper anterior teeth of each patient. Seventy females who had periodontally involved teeth were used. In addition, the phase of menstrual cycle (menstrual phase, follicular phase, ovular phase, luteal phase) was asked on 18 periodontally involved patients and 5 females who had healthy gingivae.

The amount of GCF was determined with Periopaper[®] by Lamster technique. The Periopaper[®] with

GCF of each sample was used for the determination of E_2 . After extracting E_2 with diethylether, it was assayed with E_2 Direct Radioimmunoassay.

Therefore, the following results were obtained.

1. The amount of E_2 showed a positive relation to the severity level of PD, GI and GBI.

2. The amount of E_2 and the level of GI and GBI of the periodontally involved patients were increased in ovular and luteal phase, PD and PII was also recognized no significant difference in each phase. However, the samples of healthy patients showed no significant difference in any clinical parameters.

Key words : Estradiol-17 β , Gingival crevicular fluid, Pocket depth, Gingival index, Periodontal disease

要旨 : Estradiol-17 β (E_2) と歯周疾患の関連性を解明するため歯周疾患患者の GCF 中の E_2 と主な臨床所見 (Pocket Depth, Gingival Index, Gingival Bleeding Index, Plaque Index) との関係について検討し、さらに月経周期の各時期 (月経期, 卵胞期, 排卵期, 黄体期) の GCF 中の E_2 量の変動および臨床所見の変化について検索した。被験者は歯周炎と診断された女性 70 名および健康な歯肉を有している女性 5 名である。

1. PD と E_2 , GI と E_2 , GBI と E_2 の間には有意な正の相関が認められた。

2. 歯周疾患患者群の E_2 量, GI, GBI は月経期, 卵胞期に比して排卵期, 黄体期で増加した。しかし健康者群では有意差は認められなかった。なお, PD および PII は各時期において変化は認められなかった。

索引用語 : エストラジオール-17 β , 歯周ポケット滲出液, 歯周ポケットの深さ, 炎症指数, 歯周疾患

緒 言

歯周疾患の全身的因子として、女性ホルモンが歯肉に影響を及ぼすこと¹⁻⁴⁾が報告されている。Cimasoni⁵⁾は、歯周疾患患者の歯肉溝滲出液（以下 GCF と略す）中にステロイドホルモンの存在を確認し、Lindhe ら⁶⁾は、血中に Estoradiol-17 β （以下 E₂ と略す）の高値を示す排卵期に GCF が増加することを、また Knight ら⁷⁾は経口避妊薬（Progesterone と Estrogen の配合薬）と歯周炎の関連について歯周疾患患者で検討し、服用者群は非服用者群に比べ、より多くの歯周組織の破壊がみられたと報告している。しかし GCF 中のホルモンと歯周疾患の進行に関しての報告が少なく、とくに GCF の E₂ と臨床症状との関係についての報告は著者の調べた範囲では Kornman⁸⁾の報告があるにすぎない。

そこで著者は、E₂ と歯周疾患の関連性を解明するため歯周疾患患者の GCF 中の E₂ と主な臨床所見（歯周ポケットの深さ、歯肉の炎症指数、歯肉の出血指数およびプラーク指数）との関係について検討し、さらに月経周期の各時間（月経期、排卵期、排卵期および黄体期）の GCF 中の E₂ 量の変動および臨床所見の変化についても検索を行ったので報告する。

材料および方法

1. 材 料

1) 被 験 者

被験者は日本大学歯科病院歯周病科に来院した患者のうち、臨床的に歯周炎と診断された18歳から52歳の女性70名（平均年齢27.4歳）で問診、視診、既往歴の調査および通常の臨床検査などにより、全身的疾患を有していないと判定された患者である。

また臨床的に健康な歯肉を有している18歳から39歳の女性5名（平均年齢26.2歳）を健康者群とした。

2) 被 験 歯

被験歯は、ほぼ正常な歯列弓を有している上顎左右中切歯、側切歯および犬歯の6歯で、いずれも修復物、補綴物および齶蝕のないものである。

2. 実験方法

1) 試料の採取

GCF の採取はペリオトロン®（Harco Electronics Ltd 製）を用い、Lamster ら⁹⁾の方法に準じて行った。すなわち、上顎左右中切歯、側切歯および犬歯の歯周ポケッ

トの深さ（以下 PD と略す）の最深部を対象とし、簡易防湿を行い、歯肉縁上プラークの除去後、静かにエアードで乾燥し30秒間放置し、ペリオペーパー®（HAR-601 Harco Electronics Ltd 製）をポケット内へ軽く抵抗の感じられるまで挿入し、30秒間静置させてから取り出し、ペリオトロン®で GCF 量を測定した。そのペリオペーパー®を、ただちに 300 μ l の滅菌生理食塩水中に入れ攪拌後、-20°C で凍結保存した。なお、著者の予備実験の結果、GCF の量は月経周期により変動があるため、量的変動の少なかった月経期に採取を行った。なお、月経周期は基礎体温を基にした。また被験者70名中の18名および健康者群の5名については、月経周期の各時期、すなわち月経期、排卵期、排卵期、黄体期についても GCF の採取を行い E₂ 量を測定した。

2) 試料の調製

試料の調製は杉並ら¹⁰⁾の抽出法を一部改変して行った。すなわち、-20°C で凍結保存した GCF を測定時に 40°C の温水槽で解凍し、これに diethylether 200 μ l を加え、Vortex mixer を用いて25秒間、激しく攪拌した。次いで1分間静置後、この試験管を dry ice-methanol 槽に浸し水層を凍結し ether 層のみを採取した。ether を蒸発除去して得られた乾固物を 50% methanol 400 μ l で溶解した。n-hexane を用いてこの溶液の脱脂操作を行った後、methanol を蒸発除去して乾固物を得た。最後にこの乾固物を 10 mM の pH 7.2、リン酸緩衝液、50 μ l で再溶解し試料とした。

3) E₂ の測定

E₂ の測定には Estradiol Direct Radioimmunoassay Kit (ESTRK-125, CIS 社製) を用いた。すなわち、上記試料 50 μ l に 25 μ l の第1抗体（抗 estradiol 家兔血清）溶液を加え Vortex mixer により1分間攪拌した後、室温で24時間 pre-incubation¹¹⁾を行った。さらに 25 μ l の ¹²⁵I で標識された ¹²⁵I-estradiol 溶液を加え Vortex mixer により1分間攪拌した後、室温で3時間 first incubation を行い 250 μ l の第2抗体（抗家兔 γ -globulin 羊血清）溶液を加えて Vortex mixer により1分間攪拌し、室温で15分間 second incubation を行った。この反応液を室温で15分間、2000×g で遠心分離し、アスピレーターで上清を吸引除去した。その沈渣を γ -counter (autowell gamma system ARC-300 Aloka 社製) により放射能測定を行い試料中の E₂ 量を算出し GCF 1 μ l あたりの E₂ 量として表わした。なお、ペリオペーパー®に濃度既知の E₂ を滴下し、それを 300 μ l の滅菌生理食塩水中に入れ GCF 試料と同様の抽出操作を行い、回収

図 1 PD と E₂ 量の相関関係 図 2 GI と E₂ 量の相関関係

率を検討したところ 98.6% であった。そこで試料中の E₂ 量は回収率を考慮して算出した。

4) 臨床診査法

(1) 歯周ポケットの深さ (PD)

歯周プローブ (CP-11, Hu-Friedy 社製) を用い、1 歯に対して唇・口蓋側それぞれの近心隅角部、中央部、遠心隅角部の計 6 点における歯周ポケットの深さを計測したのち、各歯の最深部を試料採取部とし、6 歯の最深部の平均値を mm 数で表わし PD とした。

(2) 歯肉の炎症指数 (以下 GI と略す)

歯肉の炎症指数は Løe & Silness¹²⁾ の方法に準じて判定した。すなわち、歯肉面を近心面、遠心面、唇側面、舌側面の 4 面に分け、肉眼および歯周プローブを用いて診査し、以下の判定基準に従った。すなわち、正常な歯肉を 0 とし、歯肉の色の変化が見られ、浮腫が軽度でありプロービングしても出血しないものを 1 とし、歯肉が赤く浮腫状で光沢を持っており、プロービングすると出血するものを 2 とし、歯肉が著しく赤く浮腫状であり、潰瘍を形成し持続的および自然出血傾向が認められるものを 3 と評価し、試料採取部位の炎症指数の平均値を各試料の GI とした。

(3) 歯肉の出血指数 (以下 GBI と略す)

歯肉の出血指数は Ainamo & Bay¹³⁾ の方法に準じて判定した。すなわち、歯周プローブで歯周ポケットの測定時、30 秒以内にその部位に出血が認められた場合を 1、認められなかった場合を 0 として評価し、試料採取部位を測定したのち、測定点の総数に対して、出血の認められた割合 (%) を各試料の GBI とした。

(4) プラーク指数 (以下 PII と略す)

プラークの付着状況は、Silness & Løe¹⁴⁾ の方法に準じて判定した。すなわち、歯面を近心面、遠心面、唇側面、舌側面の 4 面に分け、肉眼およびプローブを用いて診査し、以下の判定基準に従った。すなわち、プラークの付着がみられない歯面を 0 とし、プラークがプローブを歯面に沿って走らせる時のみ見られる場合を 1 とし、歯面に肉眼的に認めることのできる軟らかい付着物少量から中等度に堆積している場合を 2 とし、歯面全体にプラークが付着している場合を 3 と評価し、試料採取部位の平均値を各試料の PII とした。

成 績

1. 臨床所見と E₂ 量との関係

1) PD と E₂ 量との関係

PD と E₂ 量との関係を図 1 にしめた。PD が深くなるに従い、E₂ 量の増加が認められた。PD の最大値が 7.8 mm に対して、その E₂ 量は 0.96 pg/μl であり、最小値は 2.6 mm に対して、その E₂ 量は 0.20 pg/μl であった。PD と E₂ の相関係数は 0.82 であり、危険率 0.1% 以下で有意な正の相関が認められた。

2) GI と E₂ 量との関係

GI と E₂ の関係を図 2 にしめた。GI が高くなるに従い、E₂ 量の増加が認められた。GI の最大値が 2.5 に対して、その E₂ 量は 0.96 pg/μl であり、最小値は 1.3 に対して、その E₂ 量は 0.20 pg/μl であった。GI と E₂ の相関係数は 0.83 であり、危険率 0.1% 以下で有意な正の相関が認められた。

表 1 月経周期における E_2 量, GI, GBI および PII の平均値および標準偏差

月経周期	実験群	E_2 量 ($\text{pg}/\mu\text{l}$)	GI	GBI (%)	PII
月経期	歯周疾患患者群	0.31 ± 0.081	1.5 ± 0.21	53 ± 23	1.5 ± 0.38
	健康者群	0.16 ± 0.022	0.070 ± 0.090	0	0.20 ± 0.21
卵胞期	歯周疾患患者群	0.35 ± 0.071	1.5 ± 0.20	55 ± 21	1.5 ± 0.39
	健康者群	0.17 ± 0.022	0.070 ± 0.090	0	0.20 ± 0.21
排卵期	歯周疾患患者群	0.60 ± 0.10	1.8 ± 0.18	87 ± 17	1.6 ± 0.37
	健康者群	0.20 ± 0.036	0.10 ± 0.14	3.3 ± 7.4	0.20 ± 0.21
黄体期	歯周疾患患者群	0.57 ± 0.12	1.8 ± 0.20	84 ± 20	1.5 ± 0.35
	健康者群	0.19 ± 0.029	0.10 ± 0.14	3.3 ± 7.4	0.20 ± 0.21

歯周疾患患者群 N=18
健康者群 N=5

図 3 GBI と E_2 量の相関関係

3) GBI と E_2 量との関係

GBI と E_2 量の関係を図 3 にしめた。GBI が高くなるに従い、 E_2 量の増加が認められた。GBI の最大値が 100% に対して、その E_2 量は $0.96 \text{ pg}/\mu\text{l}$ であり、最小値は 33% に対して、その E_2 量は $0.20 \text{ pg}/\mu\text{l}$ であった。GBI と E_2 の間の相関係数は 0.79 であり、危険率 0.1% 以下で有意な正の相関が認められた。

2. 月経周期の各時期（月経期、卵胞期、排卵期および黄体期）における E_2 量, PD, GI, GBI および PII の変動について

月経周期の各時期に、歯周疾患患者群（18 名）および健康者群（5 名）から採取した GCF 中の E_2 量, GI, GBI および PII の平均値および標準偏差を表 1 および図 4~7 にしめた。 E_2 量, GI, GBI および PII は、歯周

図 4 各月経周期の E_2 量の平均値および標準偏差

疾患患者群と健康者群では各時期において健康者群が有意に少なかった。なお、PD については両群とも月経周期の各時期において有意差は認められなかった。

1) 月経周期の各時期における E_2 量の変動

歯周疾患患者群の E_2 量は月経期、卵胞期に比して排卵期および黄体期で増加した。月経期と排卵期および黄体期の間、卵胞期と排卵期および黄体期の間でそれぞれ危険率 0.1% 以下で有意差が認められた。しかし月経期と卵胞期の間、排卵期と黄体期の間では有意差は認められなかった。なお健康者群では各時期とも有意差は認められなかった。

2) 月経周期の各時期における GI および GBI の変動

歯周疾患患者群の GI および GBI は月経期、卵胞期に比して排卵期および黄体期で増加し、月経期と排卵期および黄体期の間、卵胞期と排卵期および黄体期の間でそ

図 5 各月経周期の GI 平均値および標準偏差

図 7 各月経周期の PII 平均値および標準偏差

れぞれ危険率 0.1% 以下で有意差が認められた。しかし月経期と卵胞期の間、排卵期と黄体期の間では有意差は認められなかった。なお健康者群では各時期とも有意差は認められなかった。

3) 月経周期の各時期における PII の変動

歯周疾患患者群および健康者群とも各時期において PII の変化は認められなかった。

考 察

歯周疾患の発症因子の 1 つとしてホルモンの失調があげられている¹⁻⁴⁾。Cimasoni⁵⁾ は GCF 中にステロイドホルモンの存在を確認し、Lindhe ら⁶⁾ は、血液中の E_2 の高値を示す排卵期に GCF が増加することを報告している。Kornman⁸⁾ は GCF 中の E_2 レベルの変化は歯周病の修飾因子であると述べている。Formicola ら¹⁵⁾ はラットを使った実験で E_2 を投与した場合、歯肉と子宮に集中してくると報告している。しかし歯周疾患と E_2 に

図 6 各月経周期の GBI 平均値および標準偏差

関係する資料は少なく未解明の部分が多い。

そこで著者は、歯周炎患者について、その臨床所見、すなわち PD, GI および GBI を指標として、GCF 中の E_2 の量的変動について検討を試みた。GCF 中の E_2 量と歯周疾患の臨床所見を関連付けて検討した先人の報告は、著者の調べた範囲ではないが、Vittek ら¹⁶⁾ は歯肉の炎症の強い患者に歯肉中の E_2 のレベルが有意に上昇していると報告し、さらに Kornman⁸⁾ は GCF 中の E_2 量が歯周疾患と関連していると述べている。著者の成績では、PD, GI および GBI が高くなるに従って GCF 中の E_2 量は増加した。これは、Vittek ら¹⁶⁾ が歯肉に炎症があると歯肉組織に E_2 の増加が認められたとする報告と、Lindhe ら^{17,18)} が E_2 と関連のある女性ホルモンが歯肉の脈管透過性を亢進させるとした報告を総合して、著者の成績を考えると、炎症性歯肉に含まれている E_2 がポケット内へ移動したのではないかと推測される。

次に月経周期の各時期における歯周疾患患者群の GI, GBI および E_2 量の変動を検討した。臨床所見の診査、評価法は違うが、Mühlemann¹⁹⁾ は月経周期を menstrualis と intermenstrualis に分け intermenstrualis に歯肉炎が悪化すると報告をしている。著者の成績でも GI, GBI および E_2 量とはともに排卵期と黄体期に高くなった。一方、プラーク量が臨床所見に影響をおよぼす恐れがあるので、特別のブラッシング指導を行わず、PII の各時期の変動を検討したが PII には変化は認められなかった。

以上の事から歯周疾患患者の排卵期と黄体期には GCF 中の E_2 量が増加し、GI および GBI が高くなることは、この時期に E_2 が歯周組織の増悪に何らかの役割をはたしていることが示唆された。

結 論

歯周炎と診断された 18 歳から 52 歳の女性 70 名を被験者として、その被験者の GCF 中の E_2 量と臨床所見との関係について検討し、さらに月経周期の各時期の GCF 中の E_2 量および臨床所見の変化を、被験者 70 名中の 18 名および健康な歯肉を有している 18 歳から 39 歳の女性 5 名について検索し、以下の結論を得た。

1. PD が深くなるに従い、GCF 中の E_2 量の増加が認められた。PD と E_2 の相関係数は 0.82 であり、危険率 0.1% 以下で有意な正の相関が認められた。

2. GI が高くなるに従い、GCF 中の E_2 量の増加が認められた。GI と E_2 の相関係数は 0.83 であり、危険率 0.1% 以下で有意な正の相関が認められた。

3. GBI が高くなるに従い、GCF 中の E_2 量の増加が認められた。GBI と E_2 の相関係数は 0.79 であり、危険率 0.1% 以下で有意な正の相関が認められた。

4. 各月経周期における E_2 量, GI, GBI および PII は、歯周疾患患者群に比して健康者群の変動量が少なかった。

歯周疾患患者群の E_2 量, GI および GBI は月経期、卵卵期に比して排卵期および黄体期で増加した。しかし健康者群では有意差は認められなかった。なお、PD および PII は各時期において変化は認められなかった。

謝 辞

稿を終るにあたり、終始御懇篤な御指導、御校閲を賜った村井正大教授に深く感謝いたします。

また、終始御助言と御協力をいただきました森脇一成助教授、伊藤公一助教授をはじめとする歯周病学教室各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 檜垣麟三：口腔疾患と性ホルモン。ホルモンと臨床, 3 : 224-230, 1955.
- 2) Schluger, R.C. : 青野正男 (監訳) : シュルガー最新歯周治療学, 医歯薬出版, 1981, 98-99.
- 3) Goldman, H.M. and Cohen, D.W. : 石川 純, 佐藤徹一郎 (監訳) : ゴールドマン & コーエン歯周治療学, 医歯薬出版, 1979, 227-229.
- 4) Prichard, J.F. : Advanced periodontal disease/surgical and prosthetic management, 2 ed, W.B. Saunders company, Philadelphia, London, Toronto, 1972, 742-745.
- 5) Cimasoni, G. : The crevicular fluid. Monogr. Oral Sci., 3 : 16-20, 1974.
- 6) Lindhe, J. and Attström, R. : Gingival exudation during the menstrual cycle. J. Periodontal Res., 2 : 194-198, 1967.
- 7) Knight, G.M. and Wade, A.B. : The effect of hormonal contraceptives on the human periodontium. J. Periodontal Res., 9 : 18-22, 1974.
- 8) Kornman, K.S. : 歯肉縁下細菌叢の生態決定因子としての年齢, 歯肉縁上プラークおよびステロイドホルモン, Genco, R.J. and Mergenhausen, S.E., 浜田茂幸 (訳), 歯周病の科学, 医歯薬出版, 東京, 1984, 112-118.
- 9) Lamster, I.B., Mandella, R.D. and Gordon, J.M. : Lactate dehydrogenase activity in gingival crevicular fluid collected with filter paper strips : analysis in subjects with non-inflamed and mildly inflamed gingiva. J. Clin. Periodontol., 12 : 153-161, 1985.
- 10) 杉並 洋, 伊藤孝徳, 浜田雄行, 矢野浩史, 松浦俊平 : Direct radioimmunoassay 法による血中 17β -estradiol の測定—その信頼性, 有用性および臨床応用—. 産科と婦人科, 52 : 1413-1420, 1985.
- 11) Rodbard, D., Ruder, H.J., Vaitukaitis, J. and Jacobs, H.S. : Mathematical analysis of kinetics of radioligand assays : improved sensitivity obtained by delayed addition of labeled ligand. J. Clin. Endocrinol. Metab., 33 : 343-355, 1971.
- 12) Løe, H. and Silness, J. : Periodontal disease in pregnancy. Acta. Odontol. Scand., 21 : 533-551, 1963.
- 13) Ainamo, J. and Bay, I. : Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. Int. Dent. J., 25 : 229-235, 1975.
- 14) Silness, J. and Løe, H. : Periodontal disease in pregnancy II, correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta. Odontol. Scand., 22 : 121-135, 1964.
- 15) Formicola, A.J., Weatherford, T. and Grupe, H. Jr. : The uptake of H^3 -estradiol by the oral tissue of rats. J. Periodontal Res., 5 : 269-275,

- 1970.
- 16) Vittek, J., Rappaport, S.C., Gordon, G.G., Munnangi, P.R. and Southren, A.L. : Concentration of circulating hormones and metabolism of androgens by human gingiva. *J. Periodontol.*, 50 : 254-264, 1979.
- 17) Lindhe, J., Attström, R. and Björn, A.L. : The influence of progestogen on gingival exudation during menstrual cycles. A longitudinal study. *J. Periodontal Res.*, 4 : 97-102, 1969.
- 18) Lindhe, J. and Lundgren, D. : Influence of progesteron and oestrogen on the permeability of crevicular vesseles, Eastoe, J.E., Picton, D.C.A. and Alexander, A.G., The prevention of periodontal disease, Henry Kimpton Publishers, London, 1971, 184-190.
- 19) Mühlemann, H.R. : Eine Gingivitis intermenstrualis. *Schweiz. Mschr. Zahnheilk.*, 58 : 865-885, 1948.
-