歯周ポケット内ポリアミン量と臨床パラメータとの関係

鈴木 美 紀 米 田 栄 吉 堀 内 博

東北大学歯学部歯科保存学第一講座

(主任：堀内 博)

(平成 3 年 6 月 18 日受付)

Relationship between Polyamine Levels in Periodontal Pocket and Clinical Parameters

Miki SUZUKI, Eikichi MAITA and Hiroshi HORIUCHI

Department of Endodontics and Periodontics, Tohoku University School of Dentistry

4-1, Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai 980, Japan

(Chief : Prof. Hiroshi HORIUCHI)

The aim of this experimental analysis was to elucidate the relationship between polyamines and clinical periodontal parameters. Fifteen adult patients with periodontal disease and 45 junior and senior high school students who had a CPITN value of more than 13 were served as subjects of this study. Gingival crevicular fluid was collected, and the amounts and the kinds of polyamines were analysed. Significant positive correlation was found between each polyamine level and age and pocket depth, especially in the case of spermine and

putrescine. The individual polyamines were not significantly correlated with BI or GI. A slight correlation was detected between the CPITN value and the amount of cadaverine. A significant positive correlation was detected between the alveolar bone resorption ratio and each of the polyamines other than spermidine. Spermine had the highest correlation coefficient with bone resorption. The results suggest that the severity of periodontal disease depends more on spermine and putrescine levels than those of cadaverine or spermidine.

Key words : Polyamines, Clinical periodontal parameters

要旨：歯周疾患患者の臨床パラメータとポリアミンとの関係を知ることを目的とし、歯周ポケット内のポリアミンを分析した。歯周疾患を有する外来患者 15 名、および CPITN による検診で 13 以上の CPITN 値を有する中学、高校生 45 名の計 60 名を対象とした。歯周ポケット浸出液を採取し、ポリアミンの種類と量を測定した。その結果、ポリアミン量と年齢およびポケット深さの間には有意の正の相関関係を認め、特にスペルミン(Spm)、プトレッシン(Put)が強い相関を示した。BI と GI およびポリアミン量には有意の相関がみられず、CPITN 値とはカダベリンのみが弱い正の相関がみられた。骨吸収度との関係においては、スペルミジンを除いて有意の正の相関がみられ、特に Spm が強く相関した。以上から、歯周疾患の進行程度に Cad や Spd よりも Spm と Put が強く関与していることが示唆された。

索引用語：ポリアミン、歯周疾患パラメータ

緒 言

歯周炎に関連するケミカルメディエーターとしてプラーク中に産生される発炎症性物質、あるいは歯周ポケット中の微生物に由来する生理活性物質などが考えられている。また歯周ポケットは細菌性侵襲に対する生体の防御機転の場ともなっており、様々な生理活性を有するインターロイキンの存在なども報告されている^{1,2)}。生体内に広く分布するポリアミンにはプトレッシン(Put)、カダベリン(Cad)、スペルミジン(Spd)、スペルミン(Spm)などが知られており、プラーク^{3,4)}、唾液⁴⁻⁶⁾、あるいは歯周ポケット浸出液中^{7,8)}より検出されている。ポリアミンの生理作用は、細胞増殖促進作用、代謝調節、物質輸送作用など⁹⁻¹²⁾が見出されて

いる。また病理学的な観点から Russell et al.¹³⁾ は、癌患者の尿中ポリアミンが上昇すること、および Vrat-
sanos and Mandel³⁾ は齲蝕に抵抗性のある者は齲蝕罹患者よりもプラーク中のポリアミン量が有意に多いことを報告している。我々は、感染根管内にポリアミンが存在し、臨床症状、特に痛みとポリアミン量間に関連があること^{14,15)}、プラーク中のポリアミン量と GI あるいは CPITN 値間に関連性があり、ポリアミンが歯周病の発生に何らかの影響をおよぼしている可能性を報告した⁴⁾。本研究では、歯周疾患患者のポケット浸出液中のポリアミンに着目して、その定性、定量を行い、歯周状態を示す各種臨床パラメータとの関連性を検討した。

材料および方法

1. 被検者

1) 仙台市内の某女子中学校・高等学校の歯科検診で、CPITN 値^{16,17)}13 以上と診断された 45 名(中学生 21 名, 高校生 24 名, 平均 15.3 歳)を対象とした。

図 1 年齢とポリアミン量

a: Put ($r=0.42$, $p<0.001$), b: Cad ($r=0.39$, $p<0.01$), c: Spd ($r=0.30$, $p<0.05$), d: Spm ($r=0.62$, $p<0.001$), e: Total ($r=0.42$, $p<0.001$)

図 2 中・高生群と成人群別のポリアミン量

** $p<0.001$, * $p<0.05$

図 3 年齢, ポケット深さ, ポリアミン量

(A); 年齢とポケット深さ

$$r=0.67 \ (p<0.001)$$

(B); ポケット深さとポリアミン量との関係

a: Put ($r=0.66$, $p<0.001$), b: Cad ($r=0.65$, $p<0.001$), c: Spd ($r=0.56$, $p<0.001$), d: Spm ($r=0.67$, $p<0.001$), e: Total ($r=0.72$, $p<0.001$)

2) 東北大学歯学部附属病院保存科に来院した 21~60 歳(平均 44.2 歳)の辺縁性歯周炎患者 15 名(男性 4 名, 女性 11 名)を対象とした。

2. 臨床調査項目

1) ポケット深さ; ポケットプローブ (GF-W 型, Nordent, Elk Grove Village, IL) を用い, 6 点計測法で全顎のポケット深さを測定した。

2) Bleeding Index (BI); 全顎のプロービング後の出血を調べ, 百分率で表した。

3) Gingival Index (GI); Löe and Silness¹⁸⁾ の方法により $\frac{6}{42} \frac{24}{6}$ 部の歯肉炎指数を求めた。

4) 骨吸収度; 全顎 10 枚のデンタル X 線写真から, Schei のメジャー¹⁹⁾ を用いて歯槽骨の吸収率を計測した。すなわち, CEJ から根尖部までを 100 とし, 近・遠心それぞれの歯槽骨吸収度の平均で表した。

3. 試料の採取

試料採取の対象は, 最も深いポケットと, 最も浅いポケットを有する 2 歯とした。滅菌スケーラーと酒精綿で可及的に歯面および歯肉縁上のプラークを除去し, 簡易防湿下で, 歯周ポケット内よりペリオペーパー® (Harco, Winnipeg, Manitoba) を用いてポケット浸出液を採取した。1 歯につきポケット内の 3 部位から採取し, ペリオトロン® (Harco, Winnipeg, Manitoba) で液量を測定した。次いでこのペリオペーパー® を 0.1 N HCl 1 ml 中に投入し, 充分に攪拌した後, 0.45 μ m のミリポアフィルター® (Millipore, Bedford, MA) で濾過し, ポリアミン分析試料とした。

4. ポリアミンの分析

1) 分析装置

高速液体クロマトグラフィー (LC-6 A 型, 島津, 京

図4 ポケット深さによるポリアミン量
測定試料は同一患者の最浅部と最深部のポケットより採取したものである

図5 CPITN 値とポリアミン量

a: Put ($r=0.11$), b: Cad ($r=0.32$, $p<0.05$), c: Spd ($r=0.06$), d: Spm ($r=0.12$), e: Total ($r=0.21$)

都)を用いた。各附属装置、カラム、試薬および測定条件は以下の通りである。

システムコントローラー; SCL-6 A

ポンプ; LC-6 A

カラムオープン; CTO-6 A

検出器; 蛍光検出器 (RF-540)

データ処理装置; クロマトパック (CR-3 A)

試料導入装置; オートインジェクター (SIL-6 A)

カラム; HITACHI GEL # 3011 C (4×250 mm, 日立, 東京)

カラム温度; 60°C

移動相; 0.4 M KH_2PO_4

反応試薬 (OPA 試薬);

0.1 M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 1 l

o-phthalaldehyde 0.8 g

2-mercaptoethanol 2 ml

Brij 1 g

2) 試薬: Put は和光純薬 (大阪) 製, Spm と Spd は Aldrich Chemicals (Milwaukee, U.S.A.) 製, Cad

は半井化学 (京都) 製で, 0.1 N HCl に溶解して用いた。

Brij および *o*-phthalaldehyde (OPA) は関東化学 (東京) より購入した。

試薬の調整は, 再蒸留水を脱イオンし, さらにミリポアフィルター® (0.45 μm) で濾過して用いた。

3) ポリアミンの定性・定量; 50 μl の試料を 0.5 ml/min の流速でカラムに通し, 励起波長 345 nm, 測定波長 435 nm で測定した。既知のポリアミンのリテンションタイムから定性・定量を行った。溶出は Put, Cad, Spd, Spm の順に 30 分以内に終了した。

5. 統計処理

検出されたポリアミン量と, 各臨床検査パラメータとの関係の有意性は Student の *t* 検定, あるいは χ^2 検定により判定した。

図 6 Gingival Index (GI) とポリアミン量
a: Put ($r=0.01$), b: Cad ($r=0.13$), c: Spd ($r=0.14$), d: Spm ($r=0.12$), e: Total ($r=0.11$)

図 7 Bleeding Index (BI) とポリアミン量
a: Put ($r=0.19$), b: Cad ($r=0.21$), c: Spd ($r=0.17$), d: Spm ($r=0.17$), e: Total ($r=0.24$)

結 果

1. 年齢別ポリアミン量 (図 1, 2)

歯周ポケット浸出液中の各ポリアミン量は患者の年齢と共に有意に増大し、相関係数は Spm, Put, Cad, Spd の順で小さくなった。なお、図中の Total は各ポリアミン (Put, Cad, Spd, Spm) の総量である。また中・高生群と成人群に分けて、歯周ポケット内の各ポリアミン量との関係を調べたのが図 2 である。中・高生群では、Put ($0.55 \pm 0.85 \text{ nmol}/\mu\text{l}$), Cad ($0.25 \pm 0.36 \text{ nmol}/\mu\text{l}$), Spm ($0.08 \pm 0.22 \text{ nmol}/\mu\text{l}$), Spd ($0.02 \pm 0.04 \text{ nmol}/\mu\text{l}$), 成人群では、Spm ($4.08 \pm 4.22 \text{ nmol}/\mu\text{l}$), Put ($3.37 \pm 3.46 \text{ nmol}/\mu\text{l}$), Cad ($1.1 \pm 1.13 \text{ nmol}/\mu\text{l}$), Spd ($0.14 \pm 0.21 \text{ nmol}/\mu\text{l}$) が検出された。この二群間で各ポリアミンの量的比率は χ^2 検定によ

り有意差は認められなかったが、両群間の各ポリアミン量は中・高生群よりも成人群が有意に多く、総ポリアミン量では約 10 倍であった。また図には示していないが、中学生群と高校生群間では相違はみられなかった。

2. ポケット深さとポリアミン量 (図 3, 4)

図 3 (A) はポケット深さと年齢の関係を示したもので、高い有意の相関がみられた ($r=0.67$, $p<0.001$)。すなわち、年齢の増加とともにポケットは深くなり、ポリアミン量も増大することを示している。図 3 (B) はポリアミン量とポケット深さの関係で、いずれのポリアミンにおいても有意に高い相関がみられた ($p<0.001$)。

図 4 は同一患者において最も浅いポケットと最も深いポケット間でポリアミン量を比較したものである。Spd は両部位間でほぼ等量であったが、その他のポリアミンは深いポケットの方が浅いポケットより多く検

図 8 年齢と骨吸収率
($r=0.53$, $p<0.001$)

出される傾向にあった。しかし統計学的有意差は認められなかった。

3. CPITN 値とポリアミン量の関係 (図 5)

CPITN 値の増加に伴って、各ポリアミン量はやや増加傾向を示した。Cad ($r=0.32$, $p<0.05$) を除いて、Put ($r=0.11$), Spd ($r=0.06$), Spm ($r=0.12$) では有意差はみられなかった。

4. GI とポリアミン量 (図 6)

Put 以外は GI スコアが大きくなるにつれ、増加する傾向がみられたが、統計的有意差は認められなかった。

5. BI とポリアミン量 (図 7)

18 歳以下の被検者における結果を示したものであり、BI が大きくなるにつれ、ポリアミン量も多くなる傾向がみられたが、統計的有意差は得られなかった。

6. 骨吸収率と年齢 (図 8)

骨吸収率は年齢の増加に従い、有意に増大する傾向がみられた ($r=0.53$, $p<0.001$)。

7. 骨吸収率とポリアミン量 (図 9)

ポリアミン量は骨吸収率に伴い、有意に増加し、特に Spm は強い相関 ($r=0.51$, $p<0.001$) を示した。

図 9 骨吸収率とポリアミン量

a: Put ($r=0.42$, $p<0.01$), b: Cad ($r=0.33$, $p<0.05$), c: Spd ($r=0.27$), d: Spm ($r=0.51$, $p<0.001$), e: Total ($r=0.49$, $p<0.001$)

考 察

今回、歯周疾患におけるポリアミンの意義を知る目的で、歯周ポケット内のポリアミンの定性、定量分析を行い、ポリアミンの種類、量と歯周状態を示す各種の臨床パラメータとの関係について検討した。ポリアミン量は年齢およびポケット深さと有意に相関し、特に Spm, Put が多く検出された。骨吸収率との関係でも Spd を除いて、すべてに相関がみられ、特に Spm, Put が多かった。このようにポケット深さ、骨吸収が増大した重度な歯周疾患を有するポケットにはポリアミン、特に Spm, Put が蓄積していることが示唆された。深いポケットでは蛋白分解酵素を有する嫌気性微生物が優勢であり、蛋白からペプチド、アミノ酸を経て、

アミノ酸脱炭酸酵素によりポリアミンが生合成される代謝経路が考えられる。生体組織では、Put などの二級アミン類が Spd の三級アミンを経て、さらに四級アミンの Spm に代謝する経路が知られている¹¹⁾。それ故、歯周ポケット内で細菌類と生体側の酵素との共同作業によってポリアミン合成が行われ、その過程で Put は基質として、また Spm は最終ポリアミンとして多く検出されたものと推測される。

その他の臨床パラメータの中では、CPITN 値、GI、BI とポリアミンとが弱い正の相関を示したが、統計学的に有意ではなかった。ただし CPITN 値は Cad にのみ統計学的有意差がみられた。Cad はリジンの脱炭酸により生成されるが、動物組織におけるこの生成経路は知られていない²⁰⁾。従ってポケット中の Cad は細菌類により合成されたものと考えられる。GI は歯肉の炎症の程度を表す指数であり、BI も歯肉溝浸出液と相関することから²¹⁾、歯周組織の炎症を表す指標とされている。佐々木ら¹⁵⁾はポリアミンが急性炎症の主要な徴候である血管透過性亢進作用を有することを見出しており、Maita and Horiuchi²²⁾も感染根管内容物のポリアミンが、臨床症状、特に根尖性の痛みと関係すると報告している。この様に歯周組織の炎症状態とポリアミンとの関連性についての報告が示されているが、本研究結果ではポリアミン量と BI および GI スコア間に、統計学的に有意な相関はみられなかった。この理由として、対象を重度の歯周疾患を有する患者に限ったこと、および症例数が少なかったことなどが考えられる。

ポケット浸出液中のポリアミンの由来は、歯周組織由来とする Lamster et al.⁷⁾の説と、宿主側のいろいろな細胞や微生物由来であるとする Walters et al.⁸⁾の説がある。唾液やプラークのポリアミンにおいては、それが細菌由来であるのは Imahori et al.⁵⁾、佐々木ら⁴⁾、淵田ら⁶⁾の報告から明らかである。これに加えて歯周ポケット中においては宿主の組織由来のポリアミン産生機構の存在が考えられる。

今回の実験からポケット深さや骨吸収度などの歯周疾患の程度を表す指標と Spm、Put 量とが強い相関を示した。ポケットが深くなるにつれてポリアミンが蓄積し、歯槽骨吸収が起きることは、ポリアミンが上皮付着と骨の破壊の機構に何らかの関連を持つ可能性を示唆している。今後も継続して病状とポリアミンとの関係、歯周病のタイプとポリアミンとの関係などを明らかにすることが必要と考えられる。

結 論

歯周疾患患者について種々の臨床パラメータを測定し、歯周ポケット浸出液中のポリアミンとの関係について検索し、以下の結論を得た。

1. 被検者の年齢とポリアミン量、特に Spm ($r=0.62$, $p<0.001$) と Put ($r=0.42$, $p<0.001$) 間に強い正の相関を示した。
2. ポケット深さとポリアミン量、特に Spm ($r=0.67$, $p<0.001$) と Put ($r=0.66$, $p<0.001$) 間に強い正の相関が得られた。
3. CPITN 値とポリアミン量では、Cad ($r=0.32$, $p<0.05$) のみが有意の正の相関を示した。
4. GI および BI とポリアミン量は有意の相関はみられなかった。
5. 骨吸収率とポリアミン量では Spd を除き有意の正の相関を示した。特に Spm ($r=0.51$, $p<0.001$) は強い正の相関を示した。

以上の結果は、ポリアミン、特に Put と Spm がポケット深さおよび骨吸収率に強く関与している可能性を示している。

文 献

- 1) Jandinski, J.J., Stashenko, P., Feder, L.S., Leung, C.C., Peros, W.J., Rynar, J.E. and Deasy, M.J.: Localization of Interleukin-1 in human periodontal tissue. *J. Periodontol.*, 62: 36-43, 1991.
- 2) 飯山正夫, 堀内博: 辺縁性歯周炎に対するインターロイキン 1 の関与. *日歯周誌*, 28: 963-979, 1986.
- 3) Vratsanos, S.M. and Mandel, I.D.: Polyamines of dental plaque in caries-resistant vs. caries-susceptible adults. *J. Dent. Res.*, 64: 422-424, 1985.
- 4) 佐々木俊明, 穴戸良一, 米田栄吉, 堀内 博: ヒト唾液およびプラーク中のポリアミン量. *日歯保誌*, 30: 1072-1078, 1987.
- 5) Imahori K., Suzuki F. and Bachrach U.: Polyamines, basic and clinical aspects, *Proceedings of a Satellite Symposium of the 3rd International Congress on Cell Biology, Utrecht, VNU Science Press*: 447-454, 1985.
- 6) 淵田則次, 川瀬昌宏, 山中勝馬, 山中純三, 竹沢英郎: 胃液中ポリアミンの測定と臨床的意義. *臨床病理*, 59: 176-184, 1984.
- 7) Lamster, I.B., Mandella, R.D., Zove, S.M. and Harper, D.S.: The polyamines putrescine, spermidine and spermine in human gingival crevicular fluid. *Archs. oral Biol.*, 32: 329-333, 1987.

- 8) Walters, J.D., Locaffaro, J. and Beck, F.M. : Relationship of human gingival crevicular fluid polyamine concentration to the percentage of spirochaetes in subgingival dental plaque. *Archs. oral Biol.*, 34 : 373-375, 1989.
- 9) 山崎泰英, 市原 明 : ポリアミンの生理作用. *ホルモンと臨床*, 23 : 105-109, 1947.
- 10) 竹田義郎, 井上秀夫 : ポリアミンと細胞増殖. *ホルモンと臨床*, 23 : 111-119, 1975.
- 11) 井上秀夫 : ポリアミンの生合成とその調節. *代謝*, 9 : 1010-1017, 1972.
- 12) 井上秀夫, 竹田義郎, 大工原恭 : 生化学実験講座 11, アミノ酸代謝と生体アミン, 東京化学同人, 東京. 1977, 951-993.
- 13) Russell, D.H., Levy, C.C. and Schimpff, S.C. : Urinary polyamines in cancer patient. *Cancer Res.*, 31 : 1555-1558, 1971.
- 14) 萩原 浩, 米田栄吉, 堀内 博 : 腐敗歯髄の起炎性について. *みちのく歯学誌*, 11 : 66-68, 1980.
- 15) 佐々木俊明, 米田栄吉, 堀内 博 : 根管内細胞によるアミンの産生およびその起炎性に関する研究. *日歯保誌*, 29 : 382-387, 1986.
- 16) 米田栄吉, 鈴木敬子, 佐伯訓子, 堀内 博 : CPITN による女子中高生の 6 年間の歯周疾患調査. *日歯周誌*, 32 : 1068-1076, 1990.
- 17) Ainamo, J., Barmes, D., Beagrie, G., Cutress, T., Martin, J. and Inferri, J.S. : Development of the World Health Organization (WHO) Community Periodontal Index of Treatment Needs (CPITN). *Int. Dent. J.*, 32 : 281-291, 1982.
- 18) Löe, H. and Silness, J. : Periodontal disease in pregnancy I. prevalence and severity. *Acta. Odont. Scand.*, 21 : 533-551, 1963.
- 19) Schei, O., Waerhaug, J., Lovdal, A. and Arno, A. : Alveolar bone loss as related to oral hygiene and age. *J. Periodontol.*, 30 : 7-16, 1959.
- 20) Cohen, S.S. : 竹田美文・五十嵐一衛 (訳) : ポリアミンの基礎, 菜根出版, 1976, 18.
- 21) 神山義信, 浅沼 勝, 徳嵩昇一, 前田久美子, 梁川誠郎, 堀内 博 : ヒトの実験的歯肉炎における Bleeding index について. *日歯周誌*, 23 : 518-525, 1981.
- 22) Maita, E. and Horiuchi, H. : Polyamine analysis of infected root canal contents related to clinical symptoms. *Endod. Dent. Traumatol.*, 6 : 213-217, 1990.

連絡先 :

東北大学歯学部歯科保存学第一講座

〒 980 仙台市青葉区星陵町 4-1