成人性歯周炎における初期治療効果の指標としての 歯周局所 PGE₂ レベルについて

斉藤 光博^{*1} 三上 正人^{*2} 斎藤 和子^{*2}

^{*1}日本歯科大学新潟歯学部歯周病学講座

^{*2}微生物学講座

(2002 年 4 月 13 日受理)

Crevicular Fluid PGE₂ Used to Evaluate the Effect of Initial Preparation in Adult Periodontitis

Mitsuhiro Saito^{*1}, Masato Mikami^{*2} and Kazuko Saito^{*2}

Department of ^{*1}Periodontology and ^{*2}Microbiology

The Nippon Dental University, School of Dentistry at Niigata

Accepted for publication 13 April 2002

We studied parameters for measuring periodontal disease activity using gingival crevicular fluid (GCF). We evaluated prostaglandin E₂ (PGE₂) and cyclooxygenase 2 (COX 2) mRNA detected in GCF, and compared these with clinical parameters.

GCF was taken from 40 periodontal regions of the molar teeth in 20 adult periodontal patients, 20 samples were from a probing depth (PD) exceeding 7 mm and 20 from a PD of less than 3 mm in each patient. Before and 1 month after initial treatment, we measured PD, clinical attachment level (CAL), bleeding on probing (BOP) and plaque index (PII). PD exceeding 7 mm was defined as seriously diseased and PD of less than 3 mm PD was defined as mildly diseased. One month after initial treatment, GCF was taken again from the same sites. PGE₂ in GCF was measured using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and COX 2 mRNA expression was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

After initial treatment, PD changed from 7.2 ± 0.5 mm (mean $\pm$ SD) to 3.6 ± 1.1 mm in the seriously diseased and from 2.7 ± 0.6 mm to 2.1 ± 0.6 mm in the mildly diseased. CAL changed from 8.0 ± 1.1 mm to 5.2 ± 1.4 mm in the seriously diseased and from 3.5 ± 0.8 mm to 2.9 ± 0.9 mm in the mildly diseased. In the serious diseased, PGE₂ in GCF improved from 450 ± 340 pg/site to 112 ± 70 pg/site, and in the mildly diseased, from 170 ± 200 pg/site to 70 ± 68 pg/site. PGE₂ correlated with PD and CAL, but COX 2 mRNA expression showed no correlation with PGE₂. These results suggest that PGE₂ in GCF is effective in determining periodontal disease activity, and the effectiveness of initial preparation can be evaluated under 200 pg of PGE₂ per site. J Jpn Soc Periodontol, 44 : 131–147, 2002.

Key words : adult periodontitis, initial treatment, gingival crevicular fluid, prostaglandin E₂, cyclooxygenase 2 mRNA

要旨 : 歯周疾患の疾病活動度の評価法を探索する目的で、歯肉溝滲出液（以下 GCF）中のプロスタグランジン E₂（以下 PGE₂）値の測定をして、臨床所見との比較を行った。また PGE₂ 生成に関与する酵素であるシクロオキシゲナーゼ 2（以下 COX 2）mRNA の検出を行った。

対象は成人性歯周炎と診断された患者 20 名とした。初診時、大臼歯部にて 7 mm 以上のポケットを有する部位を重症部位、同一患者の大臼歯部で 3 mm 以下のポケットを有する部位を軽症部位とし、各々の部位にペーパーポイントを挿入して GCF を採取した。初期治療を行って 1 カ月後に、初診時と同様に GCF を採取した。

なお、GCF 採取時に臨床所見として Probing Depth (以下 PD), クリニカルアタッチメントレベル (以下 CAL), プロービング時の出血 (BOP), プラーク指数 (PII) を測定した。GCF 中の PGE_2 値は ELISA 法にて測定し、COX 2 mRNA は RT-PCR 法を用いて検出を行った。

初期治療後、PD 値は重症部位で平均 7.2 ± 0.5 mm から 3.5 ± 1.2 mm へ、軽症部位で 2.7 ± 0.6 mm から 1.9 ± 0.6 mm となり、AL 値は重症部位で平均 8.0 ± 1.1 mm から 5.2 ± 1.4 mm へ、軽症部位で 3.5 ± 0.8 mm から 2.9 ± 0.9 mm へと改善した。GCF 中の PGE_2 値は重症部位で 450 ± 340 pg/site から 112 ± 70 pg/site に、軽症部位では 170 ± 200 pg/site から 70 ± 68 pg/site へと低下し、 PGE_2 値と PD 値、および PGE_2 値と CAL 値との間には相関を認めた。COX 2 mRNA の発現については PGE_2 値との相関は認められなかった。以上のことから GCF 中の PGE_2 値において 200 pg/site が疾病活動期の基準となることが示唆された。

索引用語: 成人性歯周炎, 初期治療, 歯肉溝滲出液, プロスタグランジン E_2 , シクロオキシゲナーゼ 2 mRNA

緒 言

歯周炎は歯肉縁下歯垢中の細菌によって惹起され、増悪する炎症性疾患である。歯周炎による歯周組織の破壊は、長期にわたり持続的に進行すると以前には考えられていた。しかし最近ではそれぞれの部位において比較的短期間におこる「活動期」とその後長期間に及ぶ「休止期」とを繰り返しながら進行していく疾患であるとの概念が一般的である。歯周炎活動期というのは、歯の支持骨と結合組織付着の喪失によって性格づけられる歯周病の一つの局面を指す。すなわち、歯周病の経過中の「歯周組織が破壊される局面」を歯周炎活動期と呼ぶわけであるが、このような「活動期」の期間、頻度、程度などは明確にはされていない。

Socransky ら¹⁾によると、歯周炎の経過中の活動期を作り出す因子は、① 個体の感受性の変化、② 病原微生物の増殖、③ 微生物叢の変化および ④ 発症を助ける環境の 4 つであるとされており、この 4 つが同時に存在すると歯周炎活動期が始まり、進行するとしている。その上で歯周疾患の進行については、第一に緩慢かつ継続的に歯周組織が破壊される continuous model、第二に口腔内のいくつかの部位の歯周組織が急激かつ短期間のうちに破壊され、その後破壊活動は自然に沈静化する random burst model、第三に比較的短期間に何度かの burst が生じ、その後長い鎮静期がある、asynchronous burst model という 3 つのタイプに大別される。歯周炎による歯周組織の破壊は歯周炎活動期より開始されるので、活動の予知や状態を知ることは歯周疾患の治療や予防を行うにあたって重要性が高い。歯周炎の診査・診断においては、従来から歯肉出血指数 (以下 BI), ポケットの深さ (以下 PD), クリニカルアタッチメントレベル (以下 CAL) など種々の臨床的パラメーターが用いられている。

日常臨床において歯周疾患の活動期を知るには、現行の診査方法では主としてプロービングによる CAL を経時的に測定した結果から判断することとなる。すなわち、2 つの時点において CAL を測定してその変化量をアタッチメントロス (以下 A-LOSS) として求め、それを歯周組織破壊の痕跡として診断する必要があるわけであるが、A-LOSS からは活動期病変であったという結果を知るだけで、活動性を予想したりあるいは早期診断をすることは困難であった。そのため、診断時の歯周組織が疾患活動期であるか否かを判定できる検査方法の確立が望まれる。

近年、歯周疾患の病態を炎症性サイトカインや他の炎症に関わるメディエーターについて生化学的に検討する研究が多く行われており²⁻¹⁰⁾、そのなかでもプロスタグランジン (以下 PG) E_2 と歯周疾患の臨床所見とを対比した論文は多い²⁻¹²⁾。 PGE_2 は、細胞膜に存在するホスファチジルコリンなどのリン脂質から、ホスホリパーゼ A_2 の作用により生成されるアラキドン酸に対して、シクロオキシゲナーゼ (以下 COX) と PGE 合成酵素が作用して生合成される。Goodson ら²⁾は、重度歯周疾患患者では健常者に比べて歯肉組織中の PGE_2 の濃度が高いと報告している。また Offenbacher ら³⁾は歯周病患者と歯肉炎患者を比較して、顕著な A-LOSS を呈している部位の歯肉溝滲出液 (以下 GCF) 中の PGE_2 濃度は歯肉炎を呈している部位より有意に高いことを報告している。

COX には細胞内に常在する常在型酵素の COX 1 と、通常は細胞内には存在せず炎症が発現した際に誘導される誘導型酵素の COX 2 とがある。COX 1 が関連しているといわれる作用としては、① 疼痛、② 血小板凝集、③ 胃粘膜保護などがあり、急性疼痛などには COX 1 により誘導された PGE_2 が関与する。一方で COX 2 によって生成される PG の作用としては、① 炎症の惹起、② 骨吸収の促進などがあり、COX 2 の増減は炎症局所の状態をよく反映するといわれている。

る²⁰⁻²³⁾。しかし、歯周炎局所における COX 2 mRNA の発現については採取した歯肉からの発現をみた村上¹⁶⁾の研究や歯根膜細胞からの発現をみた Shimizu¹⁴⁾の研究などがあるが多くはみられない。

本研究では、歯周疾患患者の疾病活動度の診断方法を探求する目的で歯周初期治療前と治療終了 1 カ月後に、患者の同一部位から GCF を採取し PGE₂ 量の測定を行った。また被検部位の滲出細胞における COX 2 mRNA の発現を reverse transcription-polymerase chain reaction (以下 RT-PCR) にて検討した。

対象および方法

1. 被検者

被検者は日本歯科大学新潟歯学部附属病院歯周治療科に来院し、慢性辺縁性歯周炎成人型と診断され、研究の主旨を説明してインフォームドコンセントを得た患者 20 名 (男性 10 名, 女性 10 名, 年齢 39~72 歳, 平均年齢 55.4±8.0 歳) とした。被検者はいずれも全身疾患を有さず, 抗菌剤や抗炎症剤を定期的に服用していないことを条件とした。なお, 今研究においては被検者の喫煙の有無については問わなかった。

2. 被検部位

被検部位は大臼歯部において上下顎頬舌側近遠心側を問わず, 7 mm 以上の PD および CAL を有し, 重度の歯周疾患であると思われる部位を一カ所選択して重症部位とした。また, 同一患者の大臼歯部において比較的歯周疾患の軽度と思われる, 3 mm 以下の PD を有する部位を一カ所選択して軽症部位とした。試料採取を行う対象歯の決定に際し, 外傷性咬合による物理的な侵襲による PGE₂ の生成の可能性を除くため, ブリッジの支台歯や局部床義歯の鉤歯は除外した。

3. 臨床的パラメーターの測定

1) PD

日本歯科大学新潟式プローベ (YDM, 東京) を使用し, 各歯 6 点法により 1 mm 単位で測定した。測定は通法に従った²⁴⁾。

2) CAL

日本歯科大学新潟式プローベ (YDM, 東京) を使用し, 各歯 6 点法により 1 mm 単位で測定した。測定は通法に従った。

3) プロービング時の出血 (以下 BOP)

PD, CAL を測定した際に歯肉より出血が認められた部位を BOP 陽性とし, 出血が認められなかった部位を陰性とした。

4) プラーク指数 (以下 PII)

Silness and Löe²⁵⁾ の基準に準じて PII を測定した。すなわち歯面にプラークの付着がみられないものを 0, 探針による擦過で薄膜状プラークが判明するものを 1, 中等度のプラーク付着が肉眼で確認されるものを 2, 多量のプラークが存在するものを 3 として評価した。

同一部位における 1)~4) のパラメーターを治療前と初期治療終了 1 カ月後に測定した。

4. 試料の採取

被検部位の縁上プラークを可及的に除去後, 滅菌綿球で簡易防湿した後に #40 滅菌ペーパーポイント (Zipperer, Germany) をポケット底部まで挿入し, 30 秒間放置した後取り出し, さらに新たなペーパーポイントにて同じ操作を行った。GCF を採取した 2 本のペーパーポイントは直ちに 100 μ l のリン酸緩衝食塩液 (以下 PBS) を分注したマイクロチューブに入れ, ボルテクスミキサーで攪拌し試料とした。その後直ちに試料の 5 μ l を白血球数の測定に, また 10 μ l を細胞 RNA 調製用に分取し, 残りは -80°C に保存した。

5. 試料中の白血球数の測定

試料 5 μ l とチュルク液 (和光純薬, 大阪) 5 μ l を混合し, Bürker-Türk 血球計算板を用い, 顕微鏡倍率 200 倍にて観察して試料中の白血球数を計測した。得られた細胞数を 100 μ l に換算し, 1 部位あたりの細胞数とした。

6. 試料中の PGE₂ の定量

PGE₂ の定量は Prostaglandin E₂ Immunoassay kit® (R & D systems, USA) にて行った。測定は duplicate とし, 測定プレートのウェルに試料 10 μ l とキット付属のバッファー 50 μ l を添加し, 室温にて 2 時間静置した。その後ウェルの洗浄を行い発色基質を添加し, 1 時間インキュベーションを行い, 停止溶液を加えて反応を停止した。吸光度の測定は MTP-22 マイクロプレート光度計 (コロナ電気, 茨城) を用い, 405 nm, および 610 nm の 2 波長にて行った。キットに付属の PGE₂ スタンダードにて作成した検量線から PGE₂ 濃度を求め, 一部位あたりの PGE₂ 量として換算した。

7. 試料からの RNA の調製

Chomczynski と Sacchi²⁶⁾ の方法に従い, Trizol 試薬 (Life Technology 社, USA) を用いて GCF 試料から RNA を調製した。すなわち, マイクロチューブに 10 μ l の試料と 500 μ l の Trizol 試薬を混合し, 5 分間静置した。さらに 100 μ l のクロロホルムを加え 30 秒間混合した後, 15,000 rpm, 4°C で 10 分間遠心

した。上層の水相を新たなマイクロチューブに分取し、250 μ l の2-プロパノールを加え、 -20°C で1時間静置した。マイクロチューブを15,000 rpm, 4°C で10分間遠心後、上清を除去し、沈渣を 70°C エタノールでリンスした後、乾燥した。

8. 相補的DNA (cDNA) の合成

精製RNAを20 μ l のdiethylpyrocarbonate (以下DEPC) 処理水に溶解し、その10 μ l に50 ngのランダムヘキサマープライマー (Life Technology 社), 0.5 m mol/l dNTP 混合液, 10 units RNase 阻害剤 (RNase OUT, Life Technology 社), 20 units Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (Reverscript I, 和光純薬) を加え、酵素添付の1 $\times$ RT バッファーにて全量を20 μ l に調製した。反応液を 42°C で50分間保温し、cDNAを合成した後、 95°C , 5分間加熱して酵素を失活させた。得られたcDNAは、PCRに供するまで -20°C で保存した。

9. PCR

GCF中の白血球におけるCOX 2のmRNA発現を、cDNAをテンプレートしたPCRにより検討した。また対照として β -actinの発現についても調べた。PCR反応液は2 μ l のcDNA, 0.2 m mol/l dNTP 混合液, 0.5 μ mol/l センスプライマーおよびアンチセンスプライマー, 0.5 units Tbr EXT DNA polymerase (Finnzymes, フィンランド) を含み、酵素添付の1 $\times$ PCR バッファーにて全量を25 μ l に調製した。

COX 2のプライマー配列はセンスプライマー: 5'-AAATGAGATTGTGGGAAATTTGCT-3' アンチセンスプライマー: 5'-AGATCATCTCTGCCTGAGTATCTT-3'であり、得られる増幅産物の大きさは305 base pair (以下bp) である²⁷⁾。また β actinのプライマー配列はセンスプライマー: 5'-ACCCACA-CTGTGCCCATCTA-3', アンチセンスプライマー: 5'-CGGAACCGCTCATTGCC-3' (Research Genetics, アメリカ) であり、得られる増幅産物の大きさは290 bpである。

増幅反応はGeneAmp PCR system 2400 (Parkin Elmer, USA) を用い、 96°C , 4分間の熱変性を行った後、COX 2については 96°C , 30秒間の熱変性、 52°C , 30秒間のアニーリング、 72°C , 30秒間の伸長反応を1サイクルとして、40サイクルにて行った。また β -actinについては、 96°C , 30秒間の熱変性、 56°C , 30秒間のアニーリング、 72°C , 30秒間の伸長反応を1サイクルとして35サイクルにて行った。各々のPCRにおいて最終サイクルの後には、さらに 72°C で4分間保温した。反応終了後、PCR産物につ

いて89 m mol/l Tris, 89 m mol/l ホウ酸, 2 m mol/l EDTA バッファー中にて2% アガロースゲル電気泳動を行った。泳動後のゲルは1 μ g/ml エチジウムブロマイド液で染色し、UV サンプル撮影装置FAS III (東洋紡績, 東京) にて写真撮影を行った。また、データイメージファイルDF-20 (富士フィルム, 東京) にて画像データとして保存した。画像データから増幅産物のバンドについて画像解析ソフトNIH Image (NIH, Wathington DC) にて解析し、 β -actinに対するCOX 2の相対発現量を算出した。

10. 統計学的検討

臨床的パラメーターであるPD値, CAL値, およびPGE₂値についての統計学的検討をStudentの t 検定にて行った。また、PGE₂とPD, CALとの相関関係をピアソンの相関係数で検討した。なお、統計学的検討に際しては統計計算ソフトStatView 4.0 (Abacus Concepts, USA) を用いて行った。

結 果

1. 初期治療前後における被検部位の臨床的パラメーター

被検者20名の重症部位と軽症部位の治療前の臨床的データを表1に示した。PD値(平均値 $\pm$ 標準偏差)は重症部位では 7.2 ± 0.5 mm, 軽症部位では 2.7 ± 0.6 mmを示し、両部位の間には統計学的に有意差が認められた ($p < 0.01$)。また、CAL値は重症部位では 8.0 ± 1.1 mm, 軽症部位では 3.5 ± 0.8 mmを示し、両部位の間には統計学的に有意差が認められた ($p < 0.01$)。BOPは重症部位では18名が陽性であり、軽症部位においても15名が陽性であった。重症部位および軽症部位について男女別に比較したところ、PD値, CAL値とも性別による差は認められなかった。また年齢との間にも相関は認められなかった(データ未発表)。

次に初期治療1カ月後における臨床的パラメーターを表2に示した。重症部位のPD値は 3.5 ± 1.2 mmであり、治療前の値と比較して有意な減少が認められた ($p < 0.01$)。対象としたすべての部位においてPDが改善し、最大5 mmの改善が6部位に認められた。また4 mmの改善は7部位に、3 mmの改善は4部位に、2 mmの改善は1部位1 mmの改善は2部位であり、平均で 3.7 ± 1.3 mmの改善が認められた。軽症部位においてはPD値は 1.9 ± 0.6 mmであり、治療前の値と比較して統計学的に有意差は認められなかった。重症部位のCAL値は 5.2 ± 1.4 mmであり治療前の値より有意に低下していた ($p < 0.05$)。17部位

表 1 治療前における臨床的パラメーター

No.	被検者		PD (mm)		CAL (mm)		BOP		PII	
	性別	年齢	重症部位	軽症部位	重症部位	軽症部位	重症部位	軽症部位	重症部位	軽症部位
1	f	55	7	3	7	4	+	+	1	1
2	m	57	7	3	8	4	+	+	2	1
3	f	55	7	3	7	3	+	-	2	1
4	f	57	7	2	7	2	+	-	1	0
5	f	47	7	2	8	3	+	+	2	1
6	f	47	7	3	7	3	+	+	1	0
7	f	49	7	3	8	3	+	+	2	1
8	f	49	9	3	11	3	+	+	2	1
9	f	66	7	2	7	2	+	+	2	1
10	m	59	7	3	8	5	+	-	1	0
11	m	51	7	3	8	3	+	+	2	0
12	m	55	8	3	10	5	+	+	3	3
13	m	66	8	3	8	3	+	+	2	2
14	m	72	7	3	8	4	+	+	2	2
15	f	52	7	2	9	4	-	-	2	0
16	m	39	7	2	8	4	+	+	2	2
17	f	51	7	2	8	3	+	-	0	0
18	m	53	7	3	8	4	+	+	2	2
19	m	61	7	3	7	3	+	+	1	1
20	m	66	7	2	7	4	-	+	2	1
平均値±標準偏差			7.2±0.5	2.7±0.6	8.0±1.1	3.5±0.8				

に初期治療によるアタッチメントゲインが認められ、その内訳は最大 5 mm の改善が認められたものが 3 部位、4 mm は 2 部位、3 mm は 8 部位、2 mm は 4 部位で 20 名の平均では 2.8 ± 1.5 mm であった。軽症部位の CAL 値は 2.9 ± 0.9 mm であり、多少の改善が認められたが治療前の値と比較して有意差は認められなかった。重症部位および軽症部位について男女別に比較したところ、PD 値の減少および CAL ゲイン値とも性別による差は認められなかった。また年齢との相関も認められなかった（データ未発表）。治療後に BOP が陽性から陰性に改善した部位は重症部位で 10 カ所、軽症部位で 12 カ所であった。PII 値の改善が認められた部位は治療前と比較して重症部位で 16 カ所、軽症部位で 9 カ所であった。

2. 初期治療前後における被検部位の GCF 中の PGE₂ 値と白血球数

被検者の重症部位および軽症部位から、治療前、および初期治療 1 カ月後において同一部位の GCF を採取し、PGE₂ 値と含まれる白血球数の測定を行った（表 3 および表 4）。

治療前の重症部位における PGE₂ 値は 20 pg/site から 1,410 pg/site にわたり、20 部位全体では $450 \pm$

340 pg を示した。一方、軽症部位における PGE₂ 値は 0 pg/site から 720 pg/site までは 170±200 pg で重症部位が軽症部位に比較して有意に高かった ($p < 0.01$)。被検者のうち 16 名は PGE₂ 値が軽症部位より重症部位において高かったが、被検者 No. 7, 17, 19, 20 においては軽症部位が重症部位よりも高い値を示した。治療前に採取した GCF 中に含まれる白血球数は重症部位においては 4×10^3 個/site から 6.1×10^5 個/site にわたり平均 1.1×10^5 個であった。一方、軽症部位においては、 7×10^2 個/site から 8.7×10^4 個/site にわたり、平均 1.7×10^4 個であり、軽症部位では重症部位に比べ白血球数は低い値を示した。しかし、採取した GCF 全体においては PGE₂ 値と白血球数との間に相関はみいだせなかった。初期治療 1 カ月後の重症部位における PGE₂ 値は最低 0 pg/site、最高 250 pg/site となり、全体では 112 ± 70 pg であり、治療前の値と比較し有意な低下が認められた。20 部位中 19 部位において PGE₂ 値が治療前の値より低下しており、また、測定限界値以下が 3 部位にみられた。軽症部位における PGE₂ 値は 70 ± 68 pg と治療前より低い値を示したが、治療前後において有意差は認められなかった。被検者 No. 12

表 2 治療後における臨床的パラメーター

被検者 No.	PD (mm)		CAL (mm)		BOP		PII	
	重症部位	軽症部位	重症部位	軽症部位	重症部位	軽症部位	重症部位	軽症部位
1	3	2	7	3	+	-	1	1
2	4	2	5	3	+	-	1	0
3	5	3	5	3	+	-	1	0
4	3	2	4	2	-	-	0	0
5	4	2	6	3	-	-	1	0
6	6	2	7	2	+	-	1	0
7	2	2	3	2	-	-	1	0
8	4	1	6	3	-	-	1	0
9	3	2	4	2	-	-	1	0
10	2	2	5	4	-	-	0	0
11	4	1	5	2	+	-	1	1
12	3	2	8	4	-	-	1	0
13	4	3	5	3	+	+	1	2
14	4	2	6	3	+	+	1	2
15	2	2	5	5	-	+	0	1
16	3	2	5	4	-	-	0	0
17	2	2	3	3	-	-	1	0
18	3	2	5	3	-	-	0	0
19	6	1	7	1	+	-	1	1
20	3	1	3	3	-	-	1	2
平均値±標準偏差 3.5±1.2 1.9±0.6 5.2±1.4 2.9±0.9								

および No. 19 においては、治療前は 720 および 680 pg と高値であったが、初期治療後は 0 および 50 pg に低下していた。また、測定限界値以下の部位は治療前の 2 部位から治療後には 6 部位に増えた。治療後における白血球数は重症部位では 7×10^2 個/site から 1.1×10^5 個/site にわたり、平均 1.7×10^4 個であった。また軽症部位では 7×10^2 個/site から 2.7×10^4 個/site にわたり、平均 3×10^3 個であり、両部位ともに治療前と比べ白血球数は減少する傾向が認められた。しかし、PGE₂ 値と白血球数との間には治療前と同様、相関は認められなかった。

PGE₂ 値について男女別に比較したところ、重症部位においては治療前では男性が 535 ± 437 pg、女性が 320 ± 215 pg であり、治療後ではそれぞれ 118 ± 66 pg, 105 ± 77 pg であった。軽症部位における男女別 PGE₂ 値は、治療前ではそれぞれ男性 250 ± 257 pg, 女性 84 ± 63 pg であり、治療後ではそれぞれ 75 ± 91 pg/site, 61 ± 52 pg/site であった。全体的に男性の方が高い傾向を示したが有意差は認められなかった。

3. PGE₂ 値と臨床的パラメーターとの関係

1) PD 値と PGE₂ 値の関係

重症部位の治療前後における PGE₂ 値と PD 値の散

布図を図 1 に示した。治療前では PD 値と PGE₂ 値の間には相関は認められず ($r=0.238$)、同一の PD 値であっても PGE₂ 値に相当の開きのあることを示している。治療後では PD 値の減少に伴い PGE₂ 値の低下が示されたが両者の間に相関は認められなかった ($r=0.165$)。

軽症部位の治療前後における PGE₂ 値と PD 値の散布図を図 2 に示した。治療前ではすべての PD 値が 3 mm 以下にも関わらず PGE₂ 値には差が大きく両者の間に相関は認められなかった ($r=0.306$)。治療後では治療前に比べ、PGE₂ 値の開きは小さくなっているが、PD 値との間に相関は認められなかった。

測定したすべての部位における PD 値と PGE₂ 値の全体の散布図を図 3 に示した。回帰直線は $Y=0.005x+2.956$ となり、 $r=0.547$ ($p<0.0001$) で PD 値と PGE₂ 値との間に相関関係が認められた。

2) CAL 値と PGE₂ 値との関係

重症部位の治療前後における CAL 値と PGE₂ 値の散布図を図 4 に示した。治療前の各々の CAL 値と PGE₂ 値の間に相関は認められなかった ($r=0.165$)。また、治療後においても CAL 値と PGE₂ 値の間に相関は認められなかった ($r=0.231$)。しかし初期治療

表 3 治療前における GCF 中の PGE₂ 値および白血球数

被検者			PGE ₂ (pg/site)		白血球数 (×10 ³ 個/site)	
No.	性別	年齢	重症部位	軽症部位	重症部位	軽症部位
1	f	55	210	190	22.0	8.0
2	m	57	570	110	31.0	1.3
3	f	55	350	0	29.0	0.7
4	f	57	330	40	120.0	2.1
5	f	47	680	10	71.0	12.6
6	f	47	630	50	136.0	2.1
7	f	49	50	120	154.0	56.0
8	f	49	400	140	43.0	2.1
9	f	66	240	130	83.0	4.2
10	m	59	20	0	310.0	4.7
11	m	51	380	40	266.0	87.0
12	m	55	1,070	720	68.0	2.7
13	m	66	750	330	614.0	74.6
14	m	72	1,410	170	7.3	2.1
15	f	52	290	50	10.0	0.7
16	m	39	130	30	24.6	3.3
17	f	51	20	110	36.0	2.1
18	m	53	370	200	69.0	4.6
19	m	61	480	680	103.3	60.0
20	m	66	170	220	4.0	2.1
平均値±標準偏差			450±340	170±200	110±144.4	16.7±27.8

後は CAL 値の改善に伴い、PGE₂ 値が低下する傾向が認められた。

軽症部位の治療前後における CAL 値と PGE₂ 値の散布図を図 5 に示した。治療後では、CAL 値の改善に伴い PGE₂ 値も低下する傾向を示したが、治療前 ($r=0.154$) および治療後 ($r=0.187$) とともに CAL 値と PGE₂ 値の間に相関は認められなかった。

測定したすべての部位における CAL 値と PGE₂ 値の散布図を図 6 に示した。回帰直線は $Y=0.005x+3.938$ となり、相関係数 $r=0.498$ ($p<0.0001$) で全サンプルの CAL 値と PGE₂ 値の間に相関が認められた。

3) 治療による臨床パラメーターの改善と治療前の PGE₂ の関係

治療前の PGE₂ 値から治療後の PD 値の減少、CAL 値のゲイン値、および BOP の改善の程度を予測することができるかを調べるため、重症部位において検討し、その散布図を図 7, 8 に示した。治療前の PGE₂ 値が低い方が治療後の PD 値の減少量が大きく ($r=0.244$)、CAL ゲイン値も大きくなる傾向 ($r=0.256$) を示したが各々の間に相関は認められな

かった。また、初期治療によって、BOP の改善が認められた 10 部位と改善が認められなかった 8 部位における、治療前の PGE₂ 値は 408 ± 328 pg, 535 ± 404 pg であり、両者の間に有意差は認められなかった。

4. GCF 中の細胞における COX 2 mRNA の発現について

重症部位および軽症部位から採取した GCF 中の白血球から RNA を抽出し、RT-PCR を行って COX 2 および β -actin の mRNA の発現について検討した。PCR 産物のアガロースゲル電気泳動後のエチジウムブロマイド染色像を図 9 および図 10 に示した。被検者 NO. 6, 7, 13, 20 については β -actin の mRNA 発現が検出できず、COX 2 mRNA の発現が不明であったため除外した。COX 2 mRNA の発現は初期治療前の重症部位 16 部位中 8 部位に認められたが、初期治療後では 6 部位で発現が認められなかった (被検者 No. 4, 5, 9, 12, 14, 15)。しかし逆に治療前には COX 2 mRNA が認められなかったが、治療後に認められた部位が 2 部位存在した (被検者 No. 11, 16)。軽症部位においては、治療前には 1 部位での検出であったが治療後には 4 部位に増加していた。

表 4 治療後における GCF 中の PGE_2 値および白血球数

被検者 No.	PGE_2 (pg/site)		白血球数 ($\times 10^3$ 個/site)	
	重症部位	軽症部位	重症部位	軽症部位
1	200	150	9.3	1.3
2	130	0	6.0	0.7
3	0	10	13.0	0.7
4	160	110	10.0	0.7
5	50	20	18.0	0.7
6	130	70	25.0	0.7
7	180	0	41.0	4.3
8	0	80	15.0	1.4
9	30	0	107.0	26.6
10	0	0	2.0	0.7
11	180	100	26.6	1.4
12	70	0	18.6	2.1
13	100	220	25.3	8.7
14	120	230	4.0	3.3
15	130	100	0.7	0.7
16	110	0	2.6	0.7
17	170	70	0.7	0.7
18	130	20	3.3	2.1
19	250	50	9.3	0.7
20	90	130	2.0	1.4
平均値 $\pm$ 標準偏差	112 $\pm$ 70	70 $\pm$ 68	17.0 $\pm$ 23.8	3.0 $\pm$ 5.9

図 1 重症部位における治療前後の PD 値と PGE_2 値の関係
菱形印が治療前，丸印が治療後を表示している。

COX 2 mRNA の相対発現量と GCF 中の PGE_2 値の間に関連は認められなく (表 5), また GCF 中の細胞数との関連も認められなかった。更に COX 2 mRNA

の発現状況と各臨床パラメーターとの間にも関連は認められなかった。

図 2 軽症部位における治療前後の PD 値と PGE₂ 値の関係
菱形印が治療前，丸印が治療後を表示している。

図 3 全測定部位における PD 値と PGE₂ 値の関係 (n=80)
ピアソンの相関係数 ($p < 0.0001$, $r = 0.547$)
回帰直線 $Y = 0.005x + 2.956$

考 察

近年，歯周疾患の炎症の活動性や罹患のリスクについて，PD や CAL といった過去の状態からの変化を臨床的観点からのみ判断するのではなく，生化学的見地からの検討がなされるようになってきた。すなわ

ち，炎症を惹起・増悪させたり，歯周組織の破壊に関与するような炎症性サイトカインや炎症のメディエーター，あるいは歯周疾患特有の細菌などの検出，定量化を行うことで現時点での炎症の発症状況や将来のリスクを，客観的に予測することが試みられている^{17,18)}。その際の試料の採取において患者の負担の少ない方法であることが望まれる。試料として GCF や

図 4 重症部位における治療前後の CAL 値と PGE₂ 値の関係
菱形印が治療前、丸印が治療後を表示している。

図 5 軽症部位における治療前後の CAL 値と PGE₂ 値の関係
菱形印が治療前、丸印が治療後を表示している。

歯肉が採取されることが多いが、歯肉を採取した場合採取行為自体が炎症刺激となる可能性がある。本研究で行った GCF の採取は、ペーパーポイントを選択部位に一定時間放置するのみであるから患者の負担が少なく、また採取部位を限定できることから疾患部位の状態をより正確に把握できると考えられる。

今回 GCF 試料の採取に際し、通常行われているペリオペーパーによる採取は行っていない。理由とし

て、ペリオペーパーでは幅が広すぎるため、6 点法でプロービングを行ったときの特定部位からの GCF の採取ができないこと、また 7 mm 以上の PD の存在する部位を対象としたので、ペーパーポイントの方が採取が行いやすかったことが挙げられる。ペリオペーパーを用い、ペリオトロンにて計測すれば GCF の定量が可能だが、今回は GCF 量については測定しておらず PGE₂ 濃度は不明である。今後はペーパーポイ

図 6 全測定部位における CAL 値と PGE₂ 値の関係 (n=80)

ピアソンの相関係数 ($p < 0.0001$, $r = 0.498$)

回帰直線 $Y = 0.005x + 3.938$

図 7 重症部位の初期治療前後における PD の減少量と PGE₂ 値の関係 (n=20)

ピアソンの相関係数 ($p > 0.3036$, $R = -0.244$)

ントを用いた定量方法の検討が必要であると思われる。

GCF は歯肉結合組織の血管から滲出した血液成分が接合上皮や歯肉溝上皮を通過したもので、歯肉に炎症症状があると増加し、その量は炎症の程度と関連する。GCF には PGE₂、トロンボキサン B₂ (以下 TXB₂) といったさまざまなプロスタノイド、蛋白分解酵素、免疫グロブリンや IL-1 などのサイトカイン

といった液性成分や歯肉溝に滲出してきた白血球などの細胞が含まれている。それらの量は炎症の強弱によって増減するので、炎症性サイトカインや PGE₂ などを測定することは歯周疾患の病態、すなわち歯周炎の炎症活動性が活発であるか否かを判定する指標となり得る。そこで本研究では歯周疾患部位から GCF を採取し、炎症のメディエーターのひとつである PGE₂ の測定を行って臨床所見との比較を行った。ま

図 8 重症部位の初期治療前後における CAL ゲインと PGE₂ 値の関係 (n=20)
ピアソンの相関係数 ($p>0.064$, $r=-0.458$)

図 9 初期治療前後の重症部位の GCF 中の細胞における COX 2 mRNA の発現

COX 2 および対照として β actin の RT-PCR を行い、得られた産物のアガロースゲル電気泳動像を示した。左端レーンは 100 bpDNA マーカーである。

図 10 初期治療前後の軽症部位の GCF 中の細胞における COX 2 mRNA の発現

COX 2 および対照として β actin の RT-PCR を行い、得られた産物のアガロースゲル電気泳動像を示した。左端レーンには 100 bpDNA マーカーである。

た、PG の生成に関与する酵素である COX 2 について GCF 中の白血球における mRNA の発現について検討を併せて行った。

PGE₂ は血管透過性の亢進、発熱、疼痛閾値の低下、好中球機能の抑制による免疫機能の低下、更に骨吸収に関与する^{9,10,15}。そのため、PGE₂ が歯周組織における炎症や破壊に PGE₂ が関与している可能性が、*in vitro* の実験系で報告されている^{11,12}。Czus-zak ら¹³はヒト歯肉線維芽細胞がインターロイキン 1 β (IL-1 β) 刺激により PGE₂ を産生し、さらに IL-1 β と PGE₂ の協同作用によって IL-6 の産生が亢進すると報告している。また、PGE₂ が歯周疾患の進行に与える影響について述べた論文は多く、その総量や濃度が歯周組織の炎症のパラメーターとなることが報告されている。Goodson ら²は歯周疾患に罹患している患者および健常者の合計 13 名から歯肉を採取して PGE₂ 値を測定した結果、健康な歯肉組織よりも炎症歯肉組織の方が PGE₂ 量が高かったと報告している。Offenbacher ら³は 12 名の歯周疾患患者から採取した GCF 中の PGE₂ 濃度について調査し、歯肉炎患者より歯周炎患者の方が有意に濃度が高いことを示

した。また、若年性歯周炎患者と成人性歯周炎患者では前者の方が GCF 中の PGE₂ 濃度は有意に高いことや⁴、さらには成人性歯周炎患者を 3 カ月ごとにリコールして GCF 中の PGE₂ 濃度と A-LOSS との関係性をモニターした結果、A-LOSS の生じた部位は反対側の対照部位に比較して GCF 中の PGE₂ 濃度が有意に高かったが、歯周治療を行うことにより PGE₂ 濃度が低下したと報告している⁵。Preshaw ら⁶は、歯周治療を行う前の 6 カ月と治療後の 6 カ月までの間、毎月 GCF 中の PGE₂ を測定した結果、治療 1 カ月後には治療前より PGE₂ 値が低下し、その後もそのままの状態で推移したと報告している。

このように、PGE₂ は歯周疾患とは密接な関係があつて以前から注目されており、現在のところ、歯周炎の活動度の診断基準として最も有用な要素の一つであるとされる。しかしこれらの報告においては歯周組織破壊の「活動期」と「休止期」の区別が考慮されているが、それらは患者毎に複数の部位から採取したサンプルの平均を示すものであり、個別の部位における炎症状態を把握しているとは言い難かった。今回の研究においては、歯周疾患の病状の比較的重症と思われる

表 5 初期治療前後における PGE₂ 値および COX 2 mRNA の発現

COX 2 mRNA の発現は、それぞれのサンプルの β actin の mRNA の発現量を 100 とした相対値として表した。

サンプル No.	重症部位治療前		重症部位治療後		軽症部位治療前		軽症部位治療後	
	PGE ₂ (pg/site)	COX 2	PGE ₂ (pg/site)	COX 2	PGE ₂ (pg/site)	COX 2	PGE ₂ (pg/site)	COX 2
1	210	0	200	0	190	0	150	45
2	570	0	130	0	110	0	0	0
3	350	0	0	0	0	0	10	0
4	330	12	160	0	40	N.D.	110	0
5	680	15	50	0	10	0	20	0
6	630	N.D.	130	N.D.	50	N.D.	70	N.D.
7	50	N.D.	180	N.D.	120	N.D.	0	N.D.
8	400	0	0	0	140	0	80	0
9	240	19	30	0	130	0	0	0
10	20	60	0	72	0	0	0	N.D.
11	380	0	180	32	40	0	100	0
12	1,070	19	70	0	720	18	0	18
13	750	N.D.	100	N.D.	330	N.D.	220	N.D.
14	1,410	16	120	0	170	0	230	105
15	290	17	130	0	50	0	100	0
16	130	0	110	65	30	0	0	56
17	20	0	170	0	110	N.D.	70	0
18	370	38	130	88	200	0	20	0
19	480	0	250	0	680	0	50	0
20	170	N.D.	90	N.D.	220	N.D.	130	N.D.

る PD 7 mm 以上の部位と、軽度と思われる PD 3 mm 以下の部位を各被検者毎に一カ所ずつ選択して、同一部位の GCF を歯周初期治療前後で採取した。治療後の重症部位では PD は全部位において、CAL は 17 部位で改善が認められ、PGE₂ は 19 部位で低下していた。治療後の軽症部位では PD は 10 部位、CAL は 12 部位、PGE₂ は 12 部位で改善がみられた。しかし重症部位、軽症部位とも、PD と PGE₂、CAL と PGE₂ は治療前、治療後のそれぞれにおいては相関が認められなかった。理由として、同じ PD 値でも PGE₂ 値が広範囲にわたっていることが挙げられ、歯周疾患の活動期と休止期という病態の違いによるのではないかと考えられる。また、軽症部位においても PGE₂ が高い部位が 2 部位あり、これらは治療前においては活動期であったが、治療後には PGE₂ 値は低下して炎症が軽減し、休止期になったと思われる。

Tsai ら⁷⁾によると、患者から採取した GCF 中の PGE₂ 値および LTB₄ 値は、歯周初期治療前後で低下すること、また PD 値、CAL 値と PGE₂ の 3 者の間にはそれぞれ関連が認められること、そして LTB₄

は歯肉の炎症症状に強く関与し、PGE₂ は歯周疾患の重篤度を反映することを報告している。そこで本研究では 20 名の被検者の治療前および治療後における重症部位計 80 サンプルについて PD 値、CAL 値に対応する PGE₂ 値について相関を調べた。その結果、PD と PGE₂ および CAL と PGE₂ との間にそれぞれ正の相関が認められた。治療前の重症部位においては、PD 値、CAL 値とも同一の数値であるにも関わらず、PGE₂ 値は試料毎で大きく異なっていた。しかし治療後の PGE₂ 値は 20 部位中 19 部位 (95%) で 200 pg/site 以下を示し、残りの 1 部位でも 250 pg/site であり、軽症部位においての治療後の PGE₂ 値が平均 70±68 pg/siteであることを考えあわせると、200 pg/site という PGE₂ 値が歯周疾患の炎症活動期の目安になりうると思われる。

CAL のゲインおよび BOP は、歯周治療の成功の程度を判定する有力な基準である。重症部位における治療前の PGE₂ 値と治療後の CAL ゲインとの関係を調べたところ、治療前の PGE₂ 値が低いもののほどゲインが大きい傾向を示したが、統計学的に相関は認めら

れなかった。また BOP については治療後に改善が認められた部位と認められなかった部位との間に治療前の PGE₂ 値に有意差が認められなかった。以上のことから、治療前の PGE₂ 値から治療後の CAL ゲインや BOP を予測することは不可能と思われた。これは歯周疾患の炎症症状の軽減および歯周組織の治癒には生化学的要素のみでなく、病的歯根面における歯槽骨、歯根膜、セメント質、上皮の回復やそれを促す歯肉線維芽細胞や骨芽細胞の活性といった歯周組織の環境的要素が大きく関係するためと考えられる。

PG を生成するために関係する酵素に COX があり、なかでも COX 2 は炎症に強く関与する^{22,23)}。現在まで、歯肉を採取して、その中の線維芽細胞が発現する COX 2 については研究がなされているが¹⁶⁾、GCF を試料として COX 2 の発現を検討した研究は多くない。本研究では GCF 中の PGE₂ 値の治療前後での変化と、同一部位での GCF 中の細胞における COX 2 の発現状況とを比較するために、COX 2 mRNA の発現について検討した。RT-PCR の結果、治療前の重症部位において β -actin の mRNA 発現が認められた 16 名の被験者を対象とした。 β actin の mRNA の発現の認められなかった 4 名は白血球数が少ないか、細胞数が多くてもほとんどが死細胞であり、mRNA が分解されていたことが考えられる。重症部位の治療前の試料のうち 8 部位で COX 2 mRNA の発現がみられ、そのうち 6 部位では治療後に発現が低下した。しかし、臨床的パラメーターや、PGE₂ 値が改善しているにもかかわらず、逆に治療後の方が COX 2 mRNA の発現が強くなったものも 4 部位認められ、PGE₂ 値と COX 2 mRNA との間には関連性があるとはいえない結果であった。また、軽症部位においては治療前に COX 2 mRNA の発現がみられたのは 1 部位だったが治療後には 4 部位に増えており、やはり PGE₂ と COX 2 mRNA との発現には関連がないという結果であった。これは COX 2 は常在型の酵素ではなく、化学的、物理的な刺激を受けた際にのみ短時間に限って発現する誘導型酵素であることから、試料を採取した際の刺激状況の違いが発現の差を反映しているのかも知れない。また GCF 中での PGE₂ の多くは歯肉の線維芽細胞や単球によることが考えられ、歯肉滲出細胞の大部分を占める好中球からの PGE₂ 産生は少ないのかもしれない。

一方で、GCF 中の細胞における COX 2 mRNA 発現が高いものの PGE₂ 値が低い部位も認められたことは、滲出白血球の COX 2 によって生成された PGH₂ が PGE₂ に変換されず PGD₂ や PGI₂ などの他の PG 分子やトロンボキサン B₂ の変換に使用された

可能性が考えられた。村上ら¹⁶⁾の研究で行われている「歯肉組織穿刺採取法」においては、さまざまな炎症性サイトカインの mRNA とともに COX 1 および COX 2 の mRNA が検出されており、歯肉で発現している炎症性メディエーターの mRNA の発現パターンが有効な診断基準として期待されている。歯肉を試料としたデータと GCF 中の細胞における COX の発現との間に関連があるかどうかは今後の課題である。

本研究の結果として、PGE₂ は臨床所見との比較によって炎症の度合いを判断する基準になりえるという従来の研究と同様の結果を得た。しかし、GCF 中の COX 2 mRNA の発現を歯周疾患の臨床的パラメーターおよび PGE₂ 値との比較することで炎症症状の強弱を判定するということまでは至らなかった。しかし、COX 2 選択的阻害剤が徐々に実用化されて臨床現場に供されつつあり²⁷⁾、また歯周疾患部位への非ステロイド系抗炎症剤の局所療法が盛んに研究されている現在の状況にあって²⁸⁻³²⁾、きわめて侵襲の少なく COX 2 の検出を行える方法の確立は有用となる可能性がある。ただし、検査方法として確立するためには、なお多くのサンプルを集めること、またメンテナンス期での長期にわたる検討をすること、そして歯肉線維芽細胞由来の COX 2 との厳密な区別をする方法の確立を行うことが必要であると思われる。

謝 辞

稿を終えるに臨み、本研究の機会を与えて下さり、御指導と御校閲を賜りました日本歯科大学大学院新潟歯学研究科硬組織歯周治療学、長谷川明教授に謹んで深厚なる謝意を表します。また、多くの御助言、御協力を頂きました歯周病学講座の医局員の皆様ならびに微生物学講座の先生方に深く感謝致します。

本論文の要旨は第 43 回秋期日本歯周病学会学術大会(2000 年 10 月 20 日)において発表した。

文 献

- 1) Socransky SS, Haffajee J, Goodson JM, Lindhe J: New concept of destructive periodontal disease. J Clin Periodontol, 11: 21-32, 1984.
- 2) Goodson JM, Dewhirst FEA, Brunetti A: Prostaglandin E₂ levels and human periodontal disease. Prostaglandins, 6: 81-85, 1974.
- 3) Offenbacher S, Farr DH, Goodson JM: Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. J Clin Periodontol, 8: 359-367, 1981.
- 4) Offenbacher S, Odle BM, Gray RC, Van Dyke

- TE : Crevicular fluid prostaglandin E levels as a measure of the periodontal disease status of adult and juvenile periodontitis patients. J Periodont Res, 19 : 1-13, 1984.
- 5) Offenbacher S, Odle BM, Van Dyke TE : The use of crevicular fluid prostaglandin E₂ levels as a predictor of periodontal attachment loss. J Periodont Res, 21 : 101-112, 1986.
- 6) Preshaw PM, Lauffart B, Zak E, Jeffcoat MK, Barton I, Heasman P : Progression and treatment of chronic adult periodontitis. J Periodontol, 70 : 1209-1220, 1999.
- 7) Tsai CC, Hong YC, Chen CC, Wu YM : Measurement of prostaglandin E₂ and leukotriene B₄ in the gingival crevicular fluid. J Dentistry, 26 : 97-103, 1998.
- 8) 北村正博 : 歯周炎の疾病活動度の診断 細菌学的および生化学的検査法を用いての検討. 日歯周誌, 32 : 331-354, 1990.
- 9) 安部 恒, 五十嵐文雄, 片桐慎治, 山崎和久, 原耕二 : いわゆる重度進行性歯周炎罹患患者における末梢血多形核白血球の Prostaglandin E₂ 産生について. 日歯周誌, 30 : 526-533, 1988.
- 10) 岡部京平 : カラムスイッチング法を応用した高速液体クロマトグラフィーによる歯周疾患患者唾液中のプロスタグランジン. 日歯周誌, 28 : 17-28, 1986.
- 11) 新井英雄 : ヒト歯肉線維芽細胞のプロスタグランジンに対する応答に関する研究. 日歯周誌, 32 : 402-421, 1990.
- 12) 下島孝裕, 真島 徹, 保母清彦, 楠 公仁, 丸本淑子, 池田克巳 : *Bacteroides gingivalis* による好中球の O₂-産生におよぼすプロスタグランジンの影響. 日歯周誌, 29 : 454-462, 1987.
- 13) Czuszk CA, Sutherland DE, Billman MA, Stein SH : Prostaglandin E₂ potentiates interleukin-1 β induced interleukin-6 production by human gingival fibroblasts. J Clin Periodontol, 23 : 635-640, 1996.
- 14) Shimizu N, Ozawa Y, Yamaguchi M, Goseki T, Ohzeki K, Abiko, Y : Induction of COX-2 expression by mechanical tension force in human periodontal ligament cells. J Periodontol, 69 : 670-677, 1998.
- 15) Rasmussen L, Hanstrom L, Lerner UH : Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. J Clin Periodontol, 27 : 41-52, 2000.
- 16) 村上伸也, 野崎剛徳 : 細胞間相互からみた病態診断, 吉江弘正, 宮田 隆 (編者) : 歯周病診断のストラテジー, 第一版, 医歯薬出版, 東京, 1999, 158-167.
- 17) 島内英俊, 三木靖夫, 北村正博, 村上伸也, 酒井洋子, 三好美貴, 岡田 宏 : 歯周病ハイリスク患者における宿主応答の解析. 日歯周誌, 36 : 857-870, 1994.
- 18) 北村正博, 三木靖夫, 野崎剛徳, 森谷洋介, 楠本豊, 山崎彰久, 島袋善夫, 村上伸也, 島内英俊, 岡田 宏 : 歯周病ハイリスク患者の歯肉縁下ブランク細菌叢および歯肉溝浸出液中の炎症メディエーターの検討. 日歯周誌, 36 : 847-856, 1994.
- 19) El Attar TMA, Lin HS : Relative conversion of arachidonic acid through lipoxygenase and cyclooxygenase pathway by homogenates of diseased periodontal tissues. J Oral Pathology, 12 : 7-10, 1983.
- 20) 鹿取 信, 馬嶋正隆 : 誘導型シクロオキシゲナーゼ-2 の多彩な役割とその選択的阻害剤の効果. 日薬理誌, 109 : 247-258, 1997.
- 21) 藤 博幸, 横山知永子, 田辺 忠 : シクロオキシゲナーゼの構造・機能および進化. 細胞工学, 秀潤社, 東京, 1990, 9 : 349-356.
- 22) 森田育男, 小野寺光江, 室田誠逸 : COX-1 と COX-2 の生理的意義. 細胞工学, 秀潤社, 東京, 1998, 17 : 702-706.
- 23) 森田育男 : COX-1 の生理的役割. 炎症, 19 : 69-75, 1999.
- 24) 浜口茂雄 : 歯間部歯周ポケットとその測定法に関する研究. 日歯周誌, 31 : 608-632, 1989.
- 25) Silness J, Loe H : Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odontol, 22 : 121-135, 1964.
- 26) Chomczynski P, Sacchi N : Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal Biochem, 162 : 156-159, 1987.
- 27) Hla T, Neilson K : Human cyclooxygenase-2 cDNA. Proc Natl Acad Sci USA, 89 : 7384-7388, 1992.
- 28) Bezerra MM, Lima V, Alencar VBM, Vieira IB, Brito GAC, Ribeiro RA, Rocha FAC : Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. J Periodontol, 71 : 1009-1014, 2000.
- 29) Offenbacher S, Odle BM, Braswell LD, Johnson HG, Hall CM, McClure H, Orkin JL, Strobert EA, Green MD : Changes in cyclooxygenase metabolites in experimental periodontitis in *Macaca mulatta*. J Periodont Res, 24 : 63-74, 1989.
- 30) Salvi GE, Williams RC, Offenbacher S : Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as adjuncts in the management of periodontal diseases and peri-implantitis. Current Opinion in Periodontology, 4 : 51-58, 1997.

-
- 31) Paquete DW, Lawrence HP, McCombs GB, Wilder R, Binder TA, Troullos E, Annett M, Friedman M, Smith PC, Offenbacher : Pharmacodynamic effects of ketoprofen on crevicular fluid prostanoids in adult periodontitis. J Clin Periodontol, 27 : 558-566, 2000.
- 32) Preshaw PM, Lauffart B, Brown P, Zak E, Heasman P : Effects of ketorolac tromethamine mouthrinse (0.1%) on crevicular fluid prostaglandin E₂ concentration in untreated chronic periodontitis. J Periodontol, 69 : 777-783, 1998.
-

連絡先 :

医療法人 歯仁会 斎藤歯科診療所

〒 015-0801 秋田県本荘市美倉町 47-1