

学位論文題名

実験的歯周炎進行に伴うサル歯周組織の
臨床所見とポケット内細菌の変化

—とくに *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*,
Actinobacillus actinomycetemcomitans について—

学位論文内容の要旨

緒言

歯周炎の発生と進行には、プラーク、特に歯肉線下細菌とその代謝産物が、重要な役割を果たしていることが明らかにされてきている。近年、重度歯周炎患者の歯周ポケット内からグラム陰性嫌気性桿菌が多数検出され、なかでも *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* が注目されている。特に、*P. gingivalis* は、成人性歯周炎患者の病巣部から、*P. intermedia* は成人性歯周炎の深い歯周ポケットから、また、*A. actinomycetemcomitans* は、限局型若年性歯周炎患者から多数検出されると報告されている。

しかしこれらの報告は、重度歯周炎患者のポケット内からある診査時にのみ試料を採取して調べているにすぎず、健康な歯周組織から歯肉炎さらに歯周炎へと歯周疾患が進行していく過程を、同一の被験者で継続的に調べている研究はほとんどない。

一方、歯周炎と咬合性外傷が合併すると歯周炎の進行を急速化し、高度な歯周組織破壊を引き起こすと考えられているが、その際のポケット内細菌を調べた報告はなく、歯周組織の炎症性破壊と外傷性破壊が合併した時のポケット内細菌の様相は全く不明なのが現状である。

そこで、本研究は歯周炎の発生・進行に伴う歯周組織

の破壊とポケット内細菌の関係を明かにする目的で、サルの健康な歯周組織に実験的歯周炎を誘発し、さらに咬合性外傷を合併させ、歯周疾患の進行に伴って生じる臨床的変化と、P. gingivalis, P. intermedia, A. actinomycetemcomitansを代表とするポケット内細菌の関係を間接蛍光抗体法を用いて検討した。

材料と方法

1、実験動物と実験方法；実験動物にはオスのカニクイザル2頭を用いた。実験前3週間を準備期間とし、2日に1度の割合でbrushingとscalingを行い、サルの歯周組織を臨床的に健康にした。実験期間は16週間とし、soft dietを与え、口腔清掃は一切行わなかった。被験部位は臼歯を3つに分類し、I群は処置を行わなかった綿糸非結紮群、II群は歯頸部に綿糸を結紮した綿糸結紮群、III群はII群と同様に綿糸を結紮し、さらに歯間隣接面に矯正用elasticを挿入して側方からjiggling typeの外傷力を加えた、綿糸結紮と矯正用elastic挿入群とした。

2、検索方法；実験開始から0, 2, 4, 8, 12, 16週に以下の検索を行った。臨床的診査は、口腔内カラー写真撮影、Plaque Index (PII)、Gingival Index (GI)、Probing Pocket Depth (PD)、Clinical Attachment Loss (AL)、Bleeding on Probing (BP)、X線規格撮影を行った。細菌学的診査は、被験部位の歯肉縁下プラークをpaper pointで採取して試料とし、位相差顕微鏡による採取試料中の総菌数の算定、落射型蛍光顕微鏡を用いた間接蛍光抗体法による採取試料中のP. gingivalis、P. intermedia、A. actinomycetemcomitansの菌数および総菌数に対する割合を求めた。

結果と考察

I群は、PII、GI、BP、PDが増加したが、ALと骨吸収はきわめて極わずかで誤差の範囲であり、歯肉炎は発生したが歯周炎にまでは進行しなかったと考えられた。採取試料中の総菌数は実験開始時より増加したが、前記3細菌の総菌数に占める菌数と割合はほとんど増加しなかった。

Ⅱ群は、臨床診査項目すべてⅠ群より有意に増加しており、特にALと骨吸収は著名で、歯周炎が発生したと考えられた。試料中の総菌数は実験開始時の約10倍まで増加し、Ⅰ群と比較するとかなり高い値だった。前記3細菌の菌数と割合もⅠ群より有意に増加していた。これらから、試料中の総菌数および前記3細菌の菌数と割合は歯周炎と関連があると考えられた。

Ⅲ群はⅡ群とP11、G1、BPおよびPDに差はほとんど見られなかったが、ALと骨吸収はⅡ群より有意に増加していた。これらの所見は、綿糸結紮による歯周炎と矯正用elastic挿入による咬合性外傷の合併により、高度な歯周炎に進行したことを示していると考えられた。総菌数および前記3細菌の菌数と割合はそれぞれⅠ群より有意に増加したが、Ⅱ群との間に有意差は見られなかった。これは、矯正用elastic挿入によって生じた咬合性外傷は歯周炎の進行を速めるが、ポケット内の総菌数および前記3細菌の菌数と割合にあまり大きな影響を与えていないと考えられた。

歯周炎に罹患したⅡ・Ⅲ群について、各測定期間における1週間あたりのALを経時的に観察すると、ALの進行の速い急性進行期、中程度の慢性進行期、ほとんど進行しない静止期の3つに分類できた。各時期について採取試料中の総菌数に占める前記3細菌の割合を比較検討すると、P. gingivalisは急性進行期に増加し、慢性進行期には減少傾向を示し、静止期にはさらに低い値を示した。P. intermediaは急性進行期に増加したが、慢性進行期と静止期においても減少せず高い値を維持していた。A. actinomycetemcomitansは急性進行期から慢性進行期にかけて増加し、慢性進行期から静止期にかけては減少していた。このことから、P. gingivalisとA. actinomycetemcomitansはALの進行と関連が深いのに対し、P. intermediaは関連が少ないと考えられた。

歯周炎は、細菌と宿主の防御反応である炎症が歯周組織の破壊に複雑に関与している多因子性の感染症であり、その進行を細菌の増殖という一因子のみで説明するのは困難である。今後さらに他の因子、他の細菌を含めて長

期間にわたるより詳細な研究が必要と思われる。

結論

サルに実験的歯周炎と咬合性外傷を誘発し、歯周疾患の進行に伴う臨床的变化とポケット内細菌の関係を検討した結果、以下の所見が得られた。

1、綿糸結紮を行わなかったI群は歯肉炎の状態、ポケット内から採取した試料中の総菌数は増加したが、P. gingivalis、P. intermedia、A. actinomycetemcomitansの菌数と割合はほとんど増加していなかった。

2、綿糸を結紮したII群は歯周炎が発生し、採取試料中の総菌数および前記3細菌の菌数と割合はI群より有意に増加しており、これらが歯周炎と関連のあることが示唆された。

3、綿糸結紮と矯正用elastic挿入を行ったIII群はII群より高度の歯周炎に罹患したが、採取試料中の総菌数と前記の3菌種はII群と比べて差は少なく、咬合性外傷は歯周炎の進行を急速化するが、ポケット内の細菌叢に与える影響は少ないことが示唆された。

4、各測定期間毎における1週間あたりのALをその進行程度から観察すると、急性進行期、慢性進行期、静止期に分類できた。

5、ALの進行と前記3細菌の割合の経時的推移から、P. gingivalisとA. actinomycetemcomitansはALの進行と関連が深いことが示唆されたが、P. intermediaはこれらに比べて関連が少ないと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 加 藤 熙
副 査 教 授 下 河 辺 宏 功
副 査 教 授 渡 邊 継 男

学 位 論 文 題 名

実験的歯周炎進行に伴うサル歯周組織の 臨床所見とポケット内細菌の変化

—とくに *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*,
Actinobacillus actinomycetemcomitans について—

審査は、審査担当者全員によって、口頭にて行われた。まず、論文提出者に論文の要旨の説明を求め、以下の論述が得られた。

近年、重度歯周炎患者の歯周ポケット内からグラム陰性嫌気性桿菌が多数検出され、なかでも *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* が注目されている。しかしこれらの報告は、重度歯周炎患者のポケット内からある診査時にのみ試料を採取して調べているにすぎず、健康な歯周組織から歯肉炎さらに歯周炎へと歯周疾患が進行していく過程を、同一の被験者で継続的に調べている研究はほとんどない。

一方、歯周炎と咬合性外傷が合併すると歯周炎の進行を急速化し、高度な歯周組織破壊を引き起こすと考えられているが、その際のポケット内細菌を調べた報告はなく、歯周組織の炎症性破壊と外傷性破壊が合併した時のポケット内細菌の様相は不明なのが現状である。

そこで、本研究は歯周炎の発生・進行に伴う歯周組織の破壊とポケット内細菌の関係を明かにする目的で、サルの健康な歯周組織に実験的歯周炎を誘発し、さらに咬合性外傷を合併させ、歯周疾患の

進行に伴って生じる臨床的变化と、P. gingivalis, P. intermedia, A. actinomycetemcomitans を代表とするポケット内細菌の関係を間接蛍光抗体法を用いて検討した。

【材料と方法】

実験動物にはオスのカニクイザル2頭を用いた。実験前3週間を準備期間とし、サルの歯周組織を健康にする目的で、ブラッシングとスクレーピングを行った。実験期間は16週間とし、soft diet を与え、口腔清掃は行わなかった。被験部位は臼歯(P2, M1, M2)を3群に分類し、I群は特別な処置を行わなかった綿糸非結紮群、II群は歯頸部に綿糸を結紮して炎症を誘発した綿糸結紮群、III群は綿糸を結紮し、さらに歯間隣接面に矯正用エラスティックを挿入して外傷力を加えた綿糸結紮と矯正用エラスティック挿入群とした。

診査は各被験歯の近心・遠心・頬側中央・舌側中央の4部位で行った。臨床的診査は、口腔内カラー写真撮影、Plaque Index (PII)、Gingival Index (GI)、Probing Pocket Depth (PD)、Clinical Attachment Loss (AL)、Bleeding on Probing (BP)、X線規格撮影を行った。細菌学的診査は、被験部位の歯肉縁下プラークをペーパーポイントで採取して試料とし、位相差顕微鏡による採取試料中の総菌数の算定、落射型蛍光顕微鏡を用いた間接蛍光抗体法によるP. gingivalis、P. intermedia、A. actinomycetemcomitans の菌数および総菌数に対する割合を求めた。

【結果と考察】

I群では、PII、GI、BP、PDは増加したがALと骨吸収は生じず、歯肉炎の段階にとどまり歯周炎にまで進行していなかった。総菌数は増加したが、前記3細菌の菌数と割合は増加しなかった。

II群では、臨床診査項目すべてI群より有意に増加しており、特にALと骨吸収は著明で、歯周炎が発生していた。総菌数は約10倍に増加し、前記3細菌の菌数と総菌数に対する割合もI群より有意に

増加した。

Ⅲ群は、Ⅱ群と比べて P11、G1、BP および PDに差はなかったが、ALと骨吸収は有意に増加し、高度な歯周炎に進行していた。総菌数および前記3細菌の菌数と割合はそれぞれⅠ群より有意に増加したが、Ⅱ群との間に有意差はなかった。以上の結果から、総菌数および前記の3細菌の菌数と割合は歯周炎の進行と関連すること、咬合性外傷は歯周炎の進行を速めるが、ポケット内の総菌数および前記3細菌の菌数と割合には大きな影響を与えないことが示唆された。

Ⅱ・Ⅲ群について、各測定期間における1週間あたりのALを経時的に観察すると、ALの進行の速い急性進行期、中程度の慢性進行期、ほとんど進行しない静止期の3つに分類できた。各時期について前記3細菌の総菌数に占める割合を比較検討すると、P. gingivalis と A. actinomycetemcomitans は急性進行期から慢性進行期に増加し、慢性進行期から静止期には減少した。P. intermedia は急性進行期には増加したが、慢性進行期と静止期になっても減少せず高い値を維持していた。このことから、P. gingivalis と A. actinomycetemcomitans はALの進行と関連が深いこと、P. intermedia は比較的関連が少ないことが考えられた。

以上の研究内容について、主査および副査から基礎的、臨床的関連事項と将来展望についての質問がなされたが、提出者はこれに明快かつ適切な解答を示した。

本研究は歯科医学の発展に十分貢献するものであり、審査の結果、審査担当者全員によって、本研究の論文は歯学博士の学位を授与されるものとして値することが認められた。