



Title	2型糖尿病患者におけるクロルヘキシジングルコン酸塩含有マウスウォッシュの歯周病原性細菌および糖尿病マーカーへの影響に関する検討
Author(s)	東條, 文和
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/101560
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

2 型糖尿病患者におけるクロルヘキシジングルコン酸塩含有
マウスウォッシュの歯周病原性細菌および
糖尿病マーカーへの影響に関する検討

大阪大学大学院歯学研究科口腔科学専攻

小児歯科学講座

東 條 文 和

はじめに

歯周病は、歯周病原性細菌によって引き起こされる慢性炎症性疾患であり、成人における歯の喪失の主要な原因の1つである (Socransky と Haffajee, 2002; Kwon ら, 2021)。歯周病原性細菌のうち、特に病原性が高いとされる *Porphyromonas gingivalis*、*Treponema denticola* および *Tannerella forsythia* の3菌種はレッドコンプレックス菌種と称され、歯周病の重症化に大きく関与することが報告されている (Haffajee と Socransky, 1994; Socransky ら, 1998; Ji ら, 2015)。最近になって、歯周病は様々な全身疾患と関連することが示されており、特に2型糖尿病との関連が多く報告されている (Mealey と Oates, 2006; Novak ら, 2008; Jimenez ら, 2012; Borgnakke ら, 2013; Chapple と Genco, 2013)。

糖尿病は、血糖値を下げる働きをするインスリンの作用不足により慢性的な高血糖状態を特徴とする代謝性疾患である (American Diabetes Association, 2010)。糖尿病は2つの型に分類され、1型糖尿病は自己免疫が膵ランゲルハンス島 β 細胞を破壊することによるインスリンの絶対的な欠乏を特徴とするのに対して、2型糖尿病は膵ランゲルハンス島 β 細胞のインスリン分泌不足およびインスリン抵抗性によって引き起こされるとされている (Kathleen, 2006; Galicia-Garcia ら, 2020)。このうち2型糖尿病は、遺伝的要因のほか、肥満や運動不足などの環境的要因から40歳代以降に発症することが多く、腎臓や網膜、心血管などの全身の組織が長期にわたり高血糖状態にさらされることにより合併症を発症するリスクが高まることが知られている (Arslanian ら, 2018; Zheng ら, 2018; Faselis ら, 2020; Damanik と Yunir, 2021)。さらに、2型糖尿病患者では、口腔内の歯周病原性細菌によって産生されたサイトカインが歯周組織の出血部位より血液中に侵入することで、全身の各組織にて免疫応答が生じる (Preshaw ら, 2019)。これにより、炎症メディエーターである Interleukin (IL) - 1β 、IL-6 や Tumor necrosis factor (TNF) - α などが生成されるが、これが持続的かつ多量に生成されることで、インスリンの作用を低下させて2型糖尿病の病状を悪化させると考えられている (Luong ら, 2021; Mireya と Enrique, 2021)。これまでに、2型糖尿病患者に歯周病治療を行った結果、口腔内の歯周病原性細菌が減少するだけでなく、血糖コントロールの状態も改善したことが報告されている (Munenaga ら, 2013; Figueirado ら, 2014; D'Aiuto ら, 2018; Mauri-Obradors ら, 2018)。

歯周病の予防および進行の抑制には、歯科医院での定期的な検診およびプロフェッショナルケアに加えて、家庭での日常的なセルフケアが重要であるとされている (Saito ら, 2009; van der Maarel-Wierink ら, 2013)。セルフケア用品としては、歯ブラシや歯磨剤、歯間清掃補助用具などに加え、近年ではマウスウォッシュが注目されている (Kojima ら, 2013)。マウスウォッシュはセルフケアの中でも使用法が簡便であるため、比較的日常生活に取り入れやすい (Field ら, 1988)。これまでに、クロルヘキシジングルコン酸塩含有

マウスウォッシュが *P. gingivalis* の増殖を抑制することが示されており (Nomura ら, 2020)、その使用により歯周病の炎症反応が低下する可能性が考えられている (Tanaka と Horie, 2022)。一方で、このようなマウスウォッシュを使用することによる唾液中のレッドコンプレックス菌種の存在および 2 型糖尿病患者における病状への影響は明らかになっていない。

本研究では、2 型糖尿病患者を対象として、クロルヘキシジングルコン酸塩含有マウスウォッシュの使用による唾液中のレッドコンプレックス菌種の存在の変化および糖尿病マーカーであるヘモグロビン A1c (HbA1c) 値の変化について分析を行うこととした。

材料および方法

1. 対象

本研究は、大阪大学大学院歯学研究科倫理審査委員会の承認後、被験者の同意を得て実施した（承認日:2020年11月6日; 承認番号: R2-E16）。本研究では、2020年11月から2021年5月にかけて大阪府内の糖尿病内科クリニックを受診した2型糖尿病患者のうち、同意が得られた350人（男性245人、女性105人; 34~85歳、平均年齢65.1歳）を対象とした。試験開始時に全被験者より唾液検体を採取し、後述する Polymerase Chain Reaction (PCR) 法を用いて主要な歯周病原性細菌10菌種の検出を行うとともに、血液検体から HbA1c 値の測定と体格指数として Body Mass Index (BMI) の情報を得た。そして、(1) 主要な歯周病原性細菌が10菌種中5菌種以下しか検出されない患者、(2) HbA1c 値が6.5%未満の患者および (3) BMI が 30.0kg/m^2 以上であった患者を除外し、224人（男性158人、女性66人; 34~84歳、平均年齢65.8歳）を選定した（図1）。その後、研究途中で参加の辞退を申し出た31人を除外し、193人（男性133人、女性60人; 34~84歳、平均年齢65.8歳）が2021年1月から2022年6月までの期間に本研究に参加した。さらに、診療録において過去の血液検査結果が欠落していた20人を除外し、最終的に選択された173人（男性115人、女性58人; 34~84歳、平均年齢67.0歳）を本研究における分析対象者とした（表1）。

2. 方法

被験者には、試験開始から6か月間、1日3回（朝、昼、晩）、25mLの水道水で30秒間洗口を行うように指示した。その後の6か月間は、0.05%クロルヘキシジングルコン酸塩含有マウスウォッシュ（コンクールF®; ウエルテック株式会社, 大阪）10滴を25mLの水道水に滴下することで、クロルヘキシジングルコン酸塩濃度が0.00056%に調整されたものを用いて、同様に洗口を行うように指示した。洗口の実施回数の確認は、試験開始時に被験者ごとに手渡した記録簿への各自による記載によって確認した（図2）。研究終了後に対象者に実際に実施できた1日あたりの平均の洗口回数を算出し、洗口回数が0~1.4回までの対象者を「平均1.4回以下群」、1.5~2.4回を対象者を「平均1.5~2.4回群」、2.5~3.0回を対象者を「平均2.5回以上群」の3つに分類した。

3. 評価項目

(1) 検体採取

対象者が1~2か月ごとにクリニックを受診した際に、血液および唾液を採取した。血液検体からは、ADAMS A1c HA-8182®（株式会社アークレイ, 京都）を用いて HbA1c 値を測定した。また、年齢、性別、罹病期間、BMI および治療薬などの臨床因子のデー

タはクリニックに保管されている患者の診療録から収集した。

(2) HbA1c 値における季節変動の調整

2 型糖尿病患者の HbA1c 値は季節によって変動し、冬期には高値を示して、夏期には低値を示すことが報告されている (Higgins ら, 2009; Sakura ら, 2010)。本研究は 1 年にわたり実施されたため、水による洗口期間とマウスウォッシュの使用期間は、被験者によってそれぞれ異なる季節に該当した。そこで、1 日あたりの平均の洗口回数によって分類した対象者群のうち、試験期間中にレッドコンプレックス菌種数に有意な変化が認められた平均 1.5~3 回の分析対象者 (161 人) を抽出し、季節変動を調整することとした。HbA1c 値の季節変動を調整するため、患者の診療録から過去の同月に測定した HbA1c の平均値を算出し (図 3)、本研究期間中に測定した HbA1c 値から差し引くことで「調整 HbA1c 値」を得た。以降の分析には、この調整 HbA1c 値を用いることとした。

4. 歯周病原性細菌種の特定

(1) 唾液からの細菌 DNA の抽出

細菌 DNA の抽出は、Amano ら (1999) の方法に従い Puregene Yeast/Bact. Kit B (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて以下のように行った。採取した唾液検体を 4°C、16,100×g で 10 分間遠心分離して上清を捨て、Glu-TE Buffer (1M グルコース, 10mM 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1, 3-プロパンジオール, 1mM エチレンジアミン四酢酸; 富士フィルム和光純薬, 大阪) に懸濁した。この懸濁菌液に、N-アセチルムラミダーゼ (2.0mg/mL; 生化学工業, 東京) 62.5μL と塩化リゾチーム (10mg/mL; 富士フィルム和光純薬) 0.25μL を加え、37°C で 90 分間反応させた。その反応液に、Cell Lysis Solution (QIAGEN) 600μL を加えて 80°C で 5 分間反応させた後、RNase (10mg/mL; QIAGEN) 3μL を添加して 37°C で 30 分間静置し、Protein Precipitation Solution (QIAGEN) を 200μL 加えてボルテックスにて 20 秒間激しく懸濁させた。この懸濁液を遠心分離して得た上清に、600μL のイソプロパノール (富士フィルム和光純薬) を添加して混和し、再度遠心分離を行った。得られた沈殿を 70%エタノール (富士フィルム和光純薬) にて洗浄して乾燥後、Milli-Q 100μL に溶解した。

(2) 歯周病原性細菌の検出

本研究で用いた 10 種の歯周病原性細菌に対するプライマーの塩基配列を表 2 に示す (Edwards ら, 1989; Ashimoto ら, 1996; Conrads ら, 1996; Watanabe ら, 1996)。抽出した細菌 DNA サンプルに対して、すべての細菌の 16S rRNA 遺伝子上の共通領域に設計されたユニバーサルプライマー (PA/PD) を用いた PCR 法により細菌 DNA が抽出できていることを確認した (Marques da Silva ら, 2006)。まず、各検体から抽出した細菌 DNA 2μL、0.5μL のプライマーおよび *TaKaRa Ex Taq*[®] (タカラバイオ株式会社, 滋賀) を添付

のプロトコールに従って合計 20 μ L に調整した。DNA の増幅はサーマルサイクラー (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) を使用して 95°C で 4 分間の熱変性後、95°C で 30 秒間の熱変性、60°C で 30 秒間のアニーリング、72°C で 30 秒間の伸長反応を 30 サイクル行い、最後に 72°C で 7 分間の伸長反応を行った。PCR 産物の電気泳動は、TAE 緩衝液 (40mM Tris, 40mM 酢酸, 1mM EDTA, pH8.0; 富士フィルム和光純薬) に、1.5% アガロース S (ニッポンジーン, 東京) を加えて加熱溶解したものをゲルとして使用し、TAE 緩衝液下にて 100V 定電圧下で電気泳動を行った。DNA サイズマーカーは、100bp DNA ladder (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) を使用した。電気泳動後 0.5 μ g/mL の臭化エチジウム溶液 (富士フィルム和光純薬) で染色し、水洗後、FAS-V (日本ジェネティクス株式会社, 東京) を用いて波長 312nm の紫外線を照射することにより DNA のバンドを可視化し、各歯周病原性細菌を検出した。

(3) 洗口回数によるレッドコンプレックス菌種数の比較

試験開始時 (0 か月時)、水による洗口期間終了時 (6 か月時) およびマウスウォッシュの使用期間終了時 (12 か月時) の 3 つの時点において、PCR 法にて検出された歯周病原性細菌のうちレッドコンプレックス菌種数を比較した。

5. 臨床因子ごとの分析

水による洗口およびマウスウォッシュの使用がレッドコンプレックス菌種数と調整 HbA1c 値の変化に影響を及ぼす要因を検討するために、洗口回数ごとに分類した 3 群のうち、レッドコンプレックス菌種数に変化が認められた群の被験者 161 人 (93%) を対象として臨床因子ごとに分類して更なる分析を行った。対象者の試験期間中におけるレッドコンプレックス菌種数および調整 HbA1c 値の変化量を算出し、臨床因子ごとに 2 群間で比較した。臨床因子に関して、年齢は中央値として 68 歳、試験開始時の HbA1c 値は中央値として 7.4%、性別は男性もしくは女性、糖尿病の罹病期間は中央値として 13 年、BMI は肥満の基準値である 25.0kg/m²、また、試験開始時の治療薬はインスリンの使用の有無によってそれぞれ 2 群に分類して分析を行った。

6. 統計学的分析

統計学的分析は GraphPad Prism 9 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) を用いて行った。多群間の統計学的有意性の検定には ANOVA の後 post-hoc test として Bonferroni 法を用いて行い、2 群間の統計学的有意差の検定には χ^2 検定または Student の *t* 検定を用いて行った。統計学的有意水準は 5% に設定した。

結果

1. レッドコンプレックス菌種数の変化

マウスウォッシュの使用によりレッドコンプレックス菌種数の変化が認められた 1 例を図 4 に示す。この被験者（登録番号: 49）では、試験開始時（0 か月時）にはレッドコンプレックス 3 菌種すべてが検出されており、その後の水による洗口期間終了時（6 か月時）においても 3 菌種すべて検出された。一方で、マウスウォッシュの使用期間終了時（12 か月時）においては 3 菌種とも検出されなかった。対象者 173 人を同様に分析した結果、6 か月時は 0 か月時と比較してレッドコンプレックス菌種数に有意な変化は認められなかった。一方で、12 か月時は、0 か月時および 6 か月時と比較して、レッドコンプレックス菌種数が有意に減少した（ $P<0.001$ ）（図 5A）。

対象者を 1 日あたりの洗口回数で分類して分析を行った場合、1 日あたりの平均洗口回数が平均 1.4 回以下群（12 人）では、0 か月、6 か月時または 12 か月時のいずれの時点においても、検出されたレッドコンプレックス菌種数に有意な変化は認められなかった（図 5B）。一方で、1 日あたりの洗口回数が平均 1.5～2.4 回群（80 人）および 2.5～3 回群（81 人）においては、0 か月時と比較すると、6 か月時はレッドコンプレックス菌種数に有意な変化は認められなかったものの、12 か月時にはレッドコンプレックス菌種数が有意に減少した（ $P<0.001$ ）（図 5C, D）。

2. HbA1c 値および調整 HbA1c 値の変化

図 4 に示した被験者（登録番号: 49）における HbA1c 値の変化を図 6 に示す。水での洗口期間前後において HbA1c 値の大きな変化は認められなかったが、12 か月時では著しい減少が認められた。対象者 173 人のうち、レッドコンプレックス菌種数の減少が認められた、1 日あたりの洗口回数が平均 1.5～3 回の対象者に対して HbA1c 値の変化を分析した結果、HbA1c の平均値は、6 か月時には 0 か月時および 12 か月時と比較して有意に低い値が認められた（ $P<0.01$ ）（図 7A）。しかし、季節変動の影響を加味した調整 HbA1c 値を分析した結果、0 か月時、6 か月時、12 か月時の 3 時点において調整 HbA1c 値に有意な変化は認められなかった（図 7B）。

3. 各臨床因子におけるレッドコンプレックス菌種数の変化の比較

年齢によって 2 群に分けて分析した結果（34～68 歳 83 人、69～84 歳 78 人）、6 か月時のレッドコンプレックス菌種数に有意な変化は認められなかったが（図 8A）、12 か月時において、34～68 歳の群は 69～84 歳の群よりもレッドコンプレックス菌種数が有意に減少した（ $P<0.05$ ）（図 8B）。一方で、試験開始時の HbA1c 値によって 2 群に分けて分析した結果（7.4%以下 92 人、7.5%以上 69 人）、6 か月時および 12 か月時のレッ

ドコンプレックス菌種数に有意な変化は認められなかった (図 9A, B)。性別によって 2 群に分けて分析した結果 (男性 105 人、女性 56 人)、6 か月時のレッドコンプレックス菌種数は有意な変化を示さなかったが (図 10A)、12 か月時において男性群は女性群よりもレッドコンプレックス菌種数が有意に減少した ($P<0.05$) (図 10B)。一方で、罹病期間 (13 年以下 87 人、14 年以上 74 人)、BMI (正常群: 25.0kg/m^2 未満 110 人、肥満群: 25.0kg/m^2 以上 51 人) および試験開始時のインスリンの使用の有無 (使用無し 139 人、使用有り 22 人) によって 2 群に分けて分析した結果、6 か月時および 12 か月時いずれにおいてもレッドコンプレックス菌種数に有意な変化は認められなかった (図 11~13)。

4. 各臨床因子における調整 HbA1c 値の変化の比較

年齢によって 2 群に分けて分析した結果、6 か月時は調整 HbA1c 値に有意な変化は認められなかったが (図 14A)、12 か月時において 34~68 歳の群は 69~84 歳の群と比べて調整 HbA1c 値は有意に減少した ($P<0.05$) (図 14B)。試験開始時の HbA1c 値によって 2 群に分けて分析した結果、6 か月時は調整 HbA1c 値に有意な変化を示さなかったが (図 15A)、12 か月時においては試験開始時の HbA1c 値が 7.5%以上であった群は 7.4%以下であった群よりも調整 HbA1c 値は有意に減少した ($P<0.05$) (図 15B)。一方で、性別、罹病期間、BMI、試験開始時のインスリンの使用の有無によって 2 群に分けて分析した結果、6 か月時および 12 か月時いずれにおいても調整 HbA1c 値の有意な変化は認められなかった (図 16~19)。

考察

歯周病は歯科領域における 2 大疾患の 1 つであり、歯周病原性細菌が産生する炎症メディエーターによって病状が重症化することが明らかになっている (Nishimura ら, 2003)。また、歯周病は全身疾患との関連について数多く報告がなされており (Sanz ら, 2020; Gare ら, 2021; Bourgeois ら, 2022; Isola ら, 2023)、その 1 つに 2 型糖尿病が挙げられている (Taylor と Borgnakke, 2008; Paunica ら, 2023)。歯周病が 2 型糖尿病の病状を悪化させる機序として、歯周組織での歯周病原性細菌から産生されたサイトカインに対する免疫応答として宿主より持続的に生成される過剰な炎症メディエーターによってインスリンの作用が低下することから、歯周病原性細菌数の増加に伴い糖尿病が重症化する可能性が考えられている (Preshaw, 2011; Luong ら, 2021; Mireya と Enrique, 2021)。また、2 型糖尿病患者では、レッドコンプレックス菌種が歯肉縁下ポケットのみならず健全な歯肉溝から多く検出されることが報告されている (Aemaimanan ら, 2013)。これらのことから、本研究では歯周病原性細菌のうちレッドコンプレックス菌種に着目して、歯周病と 2 型糖尿病の重症度との関連について分析を行った。

本研究における分析対象者を選択するにあたって、試験開始時の歯周病原性細菌種の数、HbA1c 値および BMI に対してそれぞれ除外基準を設定した。歯周病原性細菌種による炎症の影響を判定するにあたり、歯周病原性細菌種の少ない患者は、口腔由来の炎症の影響を判定し難いと考えられたため、10 菌種中 5 菌種以下の患者を除外することとした (Andre ら, 2014; Nomura ら, 2023)。HbA1c 値は日本糖尿病学会の発行する糖尿病診療ガイドラインの定める糖尿病の診断基準となる 6.5%以上に設定した (日本糖尿病学会, 2024)。糖尿病治療においては、患者の病状に合わせて HbA1c 値に目標値を設定して血糖値の管理を行うため、本研究では HbA1c 値が既に十分にコントロールされている患者では、マウスウォッシュの効果を正確に判定し難いと考えられたことから基準値によって除外することとした。BMI は、 $18.5 \sim 25 \text{ kg/m}^2$ までを普通体重とし、 $25 \sim 30 \text{ kg/m}^2$ を肥満度 1、 $30 \sim 35 \text{ kg/m}^2$ を肥満度 2 と分類されている (日本肥満学会, 2022)。糖尿病は肥満との関係性が強く、特に過度の肥満患者では全身の肥満細胞から炎症メディエーターとして働く IL-6 や TNF- α を含むアディポカインが多く分泌されることにより糖尿病の病状が憎悪傾向を示すことが知られている (Gokhan, 2006)。肥満度が高い患者は全身の肥満細胞由来の炎症の影響が強く、歯周病原性細菌由来の炎症の影響を正確に判定し難いと考えられたため、本研究では肥満度 2 以上にあたる BMI が 30.0 kg/m^2 以上の患者を除外することとした。

本研究で用いたクロルヘキシジングルコン酸塩は、生理的 pH 下でクロルヘキシジンイオンを発生させ、その分子が負に帯電している細菌の細胞壁に結合し、細胞膜を障害することによってグラム陽性菌および陰性菌などの微生物に抗菌作用を示すことが知

られている (Jones, 1997)。クロルヘキシジングルコン酸塩は 0.2%の濃度で数週間程度の短期使用により、細菌に対して殺菌的に作用する一方、0.06%未満の濃度で数か月間程度の長期使用により、細菌に対して静菌的に作用することが分かっている (James ら, 2017; Maliha ら, 2017)。また、0.0005%のクロルヘキシジングルコン酸塩を含有したマウスウォッシュは、*P. gingivalis* に対して増殖抑制効果を示すことが報告されている (Nomura ら, 2020)。しかし、このマウスウォッシュが 2 型糖尿病の病状に及ぼす影響に関する報告はほとんどない。これらのことから、セルフケアに応用しやすい濃度に設定してマウスウォッシュを 2 型糖尿病患者に使用してもらうことで、レッドコンプレックス菌種および 2 型糖尿病の病状に対する影響を検討することとした。その結果、マウスウォッシュを 1 日平均 1.5 回以上使用した際には、レッドコンプレックス菌種数が有意に減少することが明らかになり、クロルヘキシジングルコン酸塩は 0.00056%の低濃度であっても 1 日複数回使用することで、レッドコンプレックス菌種の減少に効果を発揮する可能性が示された。クロルヘキシジングルコン酸塩は 12 時間以上口腔内に貯留することで、歯肉炎の抑制効果が維持される (Van Leeuwen ら, 2011)。本研究においても、1 日に複数回マウスウォッシュを使用することで、口腔内にクロルヘキシジングルコン酸塩が滞留する時間が増加し、レッドコンプレックス菌種に対しても持続的に効果を発揮した可能性が考えられた。

本研究では、長期的な血糖の状態をモニタリングする指標として HbA1c 値を採用した (Weykamp, 2013)。2 型糖尿病患者の HbA1c 値は季節変動を生じることが知られており (Higgins ら, 2009)、本研究においても被験者の HbA1c 値には季節変動が認められた。水による洗口は HbA1c 値の高い時期である 1~4 月に開始し、HbA1c 値が低い時期である 7~10 月に終了した。一方で、マウスウォッシュの使用は HbA1c 値が低い時期である 7~10 月に開始し、HbA1c 値が高い時期である 1~4 月に終了した。このことから、季節変動の影響を調整する必要があると考え、本研究では対象者の過去の血液検査結果のデータを用いて調整 HbA1c 値を算出して糖尿病の病状を評価することとした。その結果、0 か月、6 か月および 12 か月時のいずれにおいても、調整 HbA1c 値に有意な変化は認められなかった。

2 型糖尿病患者の血糖値は、年齢や性別などの様々な臨床因子によって影響を受けることが報告されている (Bellary ら, 2021; Ciarambino ら, 2022)。そのため、本研究においても各患者の臨床因子が HbA1c 値に影響している可能性が考えられ、臨床因子ごとに分類して分析を行うこととし、本研究では、年齢、性別、試験開始時の HbA1c 値、罹病期間、BMI および試験開始時のインスリンの使用の有無の 6 項目に着目し 2 群に分け統計学的分析を行った。年齢 (中央値: 68 歳)、試験開始時の HbA1c 値 (中央値: 7.4%) および罹病期間 (中央値: 13 年) については Camila ら (2021) の方法に従って中央値によって 2 群に分け、BMI は基準値 (25.0kg/m^2) によってそれぞれ分類した。

その結果、年齢による比較では、34~68 歳の群は 69~84 歳の群と比較して、レッド

コンプレックス菌種数および調整 HbA1c 値ともに有意な減少が認められた。高齢者は若年者よりも口腔バイオフィルムが蓄積しやすいことが報告されている (Bellary ら, 2021)。また、加齢に伴いインスリン抵抗性が増加するため血糖値のコントロールが難しくなる (Halim と Halim, 2019)。これらの要因により、34~68 歳の群は 69~84 歳の群よりもレッドコンプレックス菌種数および HbA1c 値に有意な減少が認められたと考えられる。

性別による比較では、マウスウォッシュの使用により、男性群では女性群と比較してレッドコンプレックス菌種数の有意な減少が認められた。しかし、調整 HbA1c 値に関しては水による洗口後およびマウスウォッシュの使用後のいずれにおいても、男女間で有意な変化は認められなかった。一般的に男性は、歯周病のリスク因子となる喫煙率や飲酒率が高いほか、女性と比較して口腔衛生習慣への関心が低く歯科受診率も低いなどの理由から、歯周病の発症率が高く、悪化し易い傾向にある (Martin ら, 2021)。日常的にマウスウォッシュを使用することにより、口腔衛生習慣への関心が高まったことで、女性群と比較して男性群においてレッドコンプレックス菌種数の有意な減少が認められた可能性が考えられる。一方で、中年以降の女性は、加齢や妊娠経験によって女性ホルモンの産生能が低下し、歯槽骨を含めた全身の骨密度の低下が起こるため、歯周病が悪化し易く (Huebner ら, 2009)、特にレッドコンプレックス菌種である *P. gingivalis* は、女性の歯周ポケットにおいて男性よりも多く認めることが知られている (Benn ら, 2022)。これらのことから、女性群ではレッドコンプレックス菌種数が男性群ほど大きく減少しなかった可能性が考えられた。

試験開始時の HbA1c 値による比較では、水による洗口期間終了時およびマウスウォッシュの使用期間終了時ともに、レッドコンプレックス菌種数に有意な変化は認められなかった。一方で、マウスウォッシュの使用期間終了時において試験開始時の HbA1c 値が 7.5%以上であった群は 7.4%以下であった群よりも調整 HbA1c 値の有意な減少が認められた。対象者の中には試験期間中に医師の判断により、投薬内容の変更を行った者も存在したため、このことが HbA1c 値が高い対象者の HbA1c 値の低下に影響した可能性が考えられる。2 型糖尿病患者は病態に合わせて様々な作用機序の糖尿病治療薬が用いられている。特に、インスリン抵抗性の改善に働くビグアナイド系薬やインスリンの分泌を促進する働きのある Dipeptidyl Peptidase (DPP) -4 阻害薬、Glucagon like Peptide (GLP) -1 受容体作動薬は一般的に多く用いられている (日本糖尿病学会)。今後は患者ごとの投薬状況を加味して対象者を分類した分析を行うことで、口腔の歯周病由来の炎症メディエーターによるインスリン抵抗性との関連について更なる研究が行われることが望まれる。

その他の臨床因子として、罹病期間、BMI、試験開始時のインスリンの使用の有無についてそれぞれ 2 群に分けて分析した結果、いずれの臨床因子においてもレッドコンプレックス菌種数および調整 HbA1c 値の有意な変化は認められなかった。

以上のことから、本研究で分析した臨床因子の中では、年齢がレッドコンプレックス菌種数および HbA1c 値の変化に影響を及ぼす可能性があり、2 型糖尿病患者に対して早期からクロルヘキシジングルコン酸塩を含有するマウスウォッシュの適切な使用を推奨することで、歯周組織だけでなく糖尿病の病状の改善にも寄与できる可能性が示された。

本研究は、長期的にマウスウォッシュを用いた洗口を行うことで口腔内細菌叢の変化を観察することができた一方で、被験者ごとの HbA1c 値の季節変動を加味する必要があった。今後は、このような要因を最小限にするためクロスオーバー試験による検討も行う必要があると考えられる。

本研究では医科クリニックにおいて血液検体および唾液検体の採取を行ったが、研究期間中の対象者の詳細な口腔内環境の変化は把握することができなかった。今後は、対象者の研究期間中の歯科受診歴や治療歴を確認するとともに、歯科医師による口腔内診査を行い、残存歯数、歯の動揺度、歯周ポケット深さおよび歯肉出血の有無などの口腔内の状況から歯周病の罹病状態を把握する必要があると考えられる。本研究で用いた PCR 法は少量の細菌 DNA でも細菌種の存在の有無を高い精度で判定できるため、PCR 法により陰性となった場合は、検体中に細菌種がほぼ存在しないことを示す。一方で、本研究で用いた PCR 法は定量的な評価を行うことはできない。Real-time PCR 法などを用いた定量的な分析は、高価であり、手技が複雑で時間を要するため、本研究においては実施しなかった。そのため、本研究の試験終了時において PCR 法により細菌の検出が確認された場合でも、試験開始時と比較して細菌数が減少している被験者は多く存在した可能性が考えられるが、細菌種の増減を詳細に評価することは困難であった。今後は、経時的な細菌の定量分析を行うことで、細菌種のより詳細な変化を明らかにすることを検討していきたい。

これまでの研究から、2 型糖尿病に対して歯周病治療を行うことで、HbA1c 値が改善したという報告がある (Teeuw ら, 2010)。本研究を通して、対象者の中には日常的に洗口を行うことで口腔ケアへの意識や歯周病治療への関心が向上し、歯科を受診する者が存在した。そのため、2 型糖尿病患者に対して、マウスウォッシュを用いた口腔ケアを啓発することで、セルフケアにおける直接的なマウスウォッシュの効果を期待できるだけでなく、患者の意識向上により歯科受診につながり、歯周病治療による HbA1c 値の改善も期待できる可能性が示された。今後は、両疾患の関係性についてさらなる研究を行うとともに、全身の健康を増進する上での口腔の重要性について啓発していきたいと考えている。

結論

34～84 歳の 2 型糖尿病患者のうち、主要な歯周病原性細菌種 10 菌種のうち 6 菌種以上検出され、HbA1c 値が 6.5%以上および BMI が 30.0kg/m² 以下の被験者において、クロルヘキシジングルコン酸塩含有マウスウォッシュの使用による唾液中のレッドコンプレックス菌種数の変化および糖尿病マーカーへの影響に関して検討を行ったところ、以下の結果が得られた。

1. 1 日あたり平均 1.5 回以上マウスウォッシュを使用することで、唾液中のレッドコンプレックス菌種数が有意に減少した。
2. 年齢で 2 群に分けると、年齢の若い群（34～68 歳）では、唾液中のレッドコンプレックス菌種数だけでなく HbA1c 値が有意に減少した。

以上のことから、比較的年齢層の若い 2 型糖尿病患者に対してクロルヘキシジングルコン酸塩含有マウスウォッシュを使用することで、唾液中の歯周病原性細菌種数を減少させるとともに、糖尿病の病状の改善も期待できる可能性が示された。

謝辞

本研究を行うにあたり、終始御懇意なる御指導を賜りました大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学講座 仲野 和彦 教授に心から謝意を表します。また、本研究を遂行するにあたり、終始様々な御指導と御校閲をいただきました広島大学大学院医系科学研究科小児歯科学 野村 良太 教授に厚く御礼申し上げます。さらに、本研究に対して、多大なる御援助、御助力をいただきました大阪大学大学院歯学研究科口腔全身連関学共同研究講座 又吉 紗綾 前特任講師および 末廣 雄登 特任助教に厚く御礼申し上げます。

本研究を行うに際し多大なる御協力と御教示をいただきました伊藤内科クリニック 伊藤 直人 院長、一般財団法人住友病院内分泌代謝内科 伊藤 慶人 先生に厚く御礼申し上げます。また、コンクール F[®]をご提供いただくとともにマウスウォッシュに関する情報を提供いただいたウエルテック株式会社の皆様に厚く御礼申し上げます。

最後になりましたが、終始研究に対し御理解と御協力をいただいた、大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学講座および同口腔全身連関学共同研究講座の皆様に厚く御礼申し上げます。

文献

- Aemaimanan, P., P. Amimanan and S. Taweechaisupapong.** 2013. Quantification of key periodontal pathogens in insulin dependent type 2 diabetic and non-diabetic patients with generalized chronic periodontitis. *Anaerobe*. 22, 64-68.
- Arslianian, S., F. Bacha, M. Grey, M. D. Marcus, N. H. White and P. Zeitler.** 2018. Evaluation and management of youth-onset type 2 diabetes: A position statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 41, 2648-2668.
- Amano, A., I. Nakagawa, K. Kataoka, I. Morisaki and S. Hamada.** 1999. Distribution of *Porphyromonas gingivalis* strains with *fimA* genotypes in periodontitis patients. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1426-1430.
- American Diabetes Association.** 2010. Diagnosis and classification of Diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 33, S62-S69.
- Andre, G., H. Adrian, H. Birte, H. G. Marie, O. S. Carsten, S. Ivo and K. Thomas.** 2014. Quantitative molecular detection of putative periodontal pathogens in clinically healthy and periodontally diseased subjects. *PLoS. One*. 16, e99244.
- Ashimoto, A., C. Chen, I. Bakker and J. Slots.** 1996. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol. Immunol.* 11, 266-273.
- Bellary, S., I. Kyrou, J. E. Brown and C. J. Bailey.** 2021. Type 2 diabetes mellitus in older adults: clinical considerations and management. *Nat. Rev. Endocrinol.* 17, 534-548.
- Benn, A. M. L., N. C. K. Heng, W. M. Thomson, C. H. Sissons, L. S. Gellen, A. R. Gray and J. M. Broadbent.** 2022. Associations of sex, oral hygiene and smoking with oral species in distinct habitats at age 32 years. *Eur. J. Oral Sci.* 130, e12829.
- Borgnakke, W. S., P. V. Ylöstalo, G. W. Taylor and R. J. Genco.** 2013. Effect of periodontal disease on diabetes: Systematic review of epidemiologic observational evidence. *J. Clin. Periodontol.* 40, S135-152.
- Bourgeois, D., L. S. Gonçalves, J. C. LimaJounior and F. Carrouel.** 2022. Editorial: The oral microbiome is a key factor in oral and systemic health. *Front. Microbiol.* 13, 855668.

- Camila, B. F., C. Sabrina, S. Fabiola, B. Leticia, Z. Themis and P. S. Sandra.** 2021. Glycated hemoglobin and blood pressure levels in adults with type 2 diabetes : How many patients are target? *Can. J. Diabetes.* 45, 334-340.
- Chapple, I. L. and R. Genco.** 2013. Working group 2 of joint EFP/AAP workshop. Working group 2 of joint EFP/AAP workshop Diabetes and periodontal diseases: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J. Periodontol.* 84, S106-112.
- Ciarambino, T., P. Crispino, G. Leto, E. Mastrolorenzo, O. Para and M. Giordano.** 2022. Influence of gender in diabetes mellitus and its complication. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 8850.
- Conrads, G., R. Mutters, J. Fischer, A. Brauner, R. Lütticken and F. Lampert.** 1996. PCR reaction and dot-blot hybridization to monitor the distribution of oral pathogens within plaque samples of periodontally healthy individuals. *J. Periodontol.* 67, 994-1003.
- D'Aiuto, F., N. Gkranias, D. Bhowruth, T. Khan, M. Orlandi, J. Suvan, S. Masi, G. Tsakos, S. Hurel, A. D. Hingorani, N. Donos, J. E. Deamfoeld and Taste Group.** 2018. Systemic effects of periodontitis treatment in patients with type 2 diabetes: A 12 month, single-centre, investigator-masked, randomised trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 6, 954-965.
- Damanik, J. and E. Yunir.** 2021. Type 2 diabetes mellitus and cognitive impairment. *ActaMed. Indones.* 53, 213-220.
- Edwards, U., T. Rogall, H. Blockerl, M. Emde and E. C. Bottger.** 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res.* 17, 7843-7853
- Faselis, C., A. Katsimardou, K. Imprialos, P. Deligkaris, M. Kallistratos and K. Dimitriadis.** 2020. Microvascular complication soft type 2 diabetes mellitus. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 18, 117-124.
- Field, E. A., D. Nind, E. Varga and M. V. Martin.** 1988. The effect of chlorhexidine irrigation on the incidence of dry socket: A pilot study. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 26, 395-401.
- Figueiredo, L. C., D. C. Souza, V. R. Santos, T. S. Miranda, M. Feres, M. Faveri and P. M. Duarte.** 2014. Full-mouth scaling and root planning in type 2 diabetic subjects: One year microbiological outcomes. *Aust. Dent. J.* 59, 490-496.

- Galicia-Garcia, U., A. Benito-Vicente, S. Jebari, A. Larrea-Sebal, H. Siddiqi, K. B. Uribe, H. Ostolaza and C. Martin.** 2020. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 6275.
- Gare, J., A. Kanoute, N. Meda, S. Viennot, D. Bourgeois and F. Carrouel.** 2021. Periodontal conditions and pathogens associated with pre-eclampsia: A scoping review. *Int. J. Environ. Res. Public. Health.* 18, 7194.
- Gokhan, S. H.** 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 444, 860-867.
- Haffajee, A. D. and S. S. Socransky.** 1994. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 5, 78-111.
- Halim, M. and A. Halim.** 2019. The effects of inflammation, aging and oxidative stress on the pathogenesis of diabetes mellitus (type 2 diabetes) . *Diabetes Metab. Syndr.* 13, 1165-1172.
- Higgins, T., S. Saw, K. Solaris, C. L. Wiley, G. C. Cembrowski, A. W. Lyon, A. Khajuria and D. Tran.** 2009. Seasonal variation in hemoglobin A1c: Is it the same in both hemispheres? *J. Diabetes Sci. Technol.* 3, 668-671.
- Huebner, C. E., P. Milgrom, D. Conrad and R. S. Y. Lee.** 2009. Providing dental care to pregnant patients: A survey of oregon general dentists. *J. Am. Dent. Assoc.* 140, 211-222.
- Isola, G., S. Santonocito, S. M. Lupi, A. Polizzi, R. Sclafani, R. Patini and E. Marchetti.** 2023. Periodontal health and disease in the context of systemic diseases. *Mediators Inflamm.* 9720947.
- James, P., H. V. Worthington, C. Parcell, M. Harding, T. Lamont, A. Cheung, H. Whelton and P. Rilly.** 2017. Chlorhexidine mouthwash as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane. Database. syst. Rev.* 3, CD008676.
- Ji, S., Y. S. Choi and Y. Choi.** 2015. Bacterial invasion and persistence: Critical events in the pathogenesis of periodontitis? *J. Periodontal Res.* 50, 570-585.
- Jimenez, M., F. B. Hu, M. Marino, Y. Li and K. J. Joshipura.** 2012. Type 2 diabetes mellitus and 20 year incidence of periodontitis and tooth loss. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 98, 494-

500.

Jones, C. G. 1997. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000. 15, 55-62.

Kathleen., M. G. 2006. Type 1 diabetes : pathogenesis and prevention. *CMAJ*. 175. 165-170.

Kojima, C., S. Takenaka. T. Oshumi and T. Okiji. 2013. Questionnaire-based assessment for popularizing a mouth rinse for self-care oral management. *J. Periodontal Res.* 55, 148-155.

Kwon, T. H., I. B. Lamster and L. Levin. 2021. Current concepts in the management of periodontitis. *Int. Dent. J.* 71, 462-476.

Luong, A. B., A. N. Tawfik, H. Islamoglu, H. S. Gobriel, N. Ali, P. Ansari, R. Shah, T. Hung, T. Patal, B. Henson, F. Thankam, J. Lewis, M. Mintline, T. Boehm, Z. Tumur and D. Seleem. 2021. Periodontitis and diabetes mellitus comorbidity: A molecular dialogue. *J. Oral. Biosci.* 63, 360-369.

Maliha, H., G. B. Ayse, C. K. Odd, M. A. Anne, S. Leiv and R. P. Hans. 2017. Comparing the effect of 0.06 and 0.2% Chlorhexidine on plaque, bleeding and side effects in an experimental gingivitis model a parallel group, double masked randomized clinical trial. *BMC Oral Health.* 118, 17-18.

Marques da Silva, R., D. A. Caugant, E. R. K. Eribe, J. A. Aas, P. S. Lomgaas, O. Geiran, L. Tronstad and I. Olsen. 2006. Bacterial diversity in aortic aneurysms determined by 16S ribosomal RNA gene analysis. *J. Vasc. Surg.* 44, 1055-1060.

Martin, S. L., S. Sharon, J. C. Carlos and H. Man. 2021. Men and oral health: A review of sex and gender differences. *Am. J. Mens Health.* 15, 3.

Mauri-Obradors, E., A. Merlos, A. Estrugo-Devesa, E. Jane-Salas, J. Lopez-Lopez and M. Vinas. 2018. Benefits of non-surgical periodontal treatment in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis: A randomized controlled trial. *J. Clin. Periodontol.* 45, 345-353.

Mealey, B. L and T. W. Oates. 2006. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J. Periodontol.* 77, 1289-1303.

Munenaga, Y., T. Yamashina, J. Tanaka and F. Nishimura. 2013. Improvement of glycated

hemoglobin in Japanese subjects with type 2 diabetes by resolution of periodontal inflammation using adjunct topical antibiotics: Results from the Hiroshima Study. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 100, 53-60.

Mireya, M. G and H. L. Enrique. 2021. Periodontal inflammation and systemic diseases: An overview. *Front Physiol.* 12, 709438.

日本糖尿病学会. 2024. 糖尿病診療ガイドライン 2024. 27-35, 88-114.

日本肥満学会. 2022 肥満症診療ガイドライン 2022. 1-3.

Nishimura, F., Y. Iwamoto, J. Mineshiba, A. Shimizu, Y. Soga and Y. Murayama. 2003. Periodontal disease and diabetes mellitus: the role of tumor necrosis factor-alpha in a 2-way relationship. *J. Periodontol.* 74, 97-102.

Nomura, R., H. Inaba, S. Matayoshi, S. Yoshida, Y. Matsumi, M. Matsumoto-Nakano and K. Nakano. 2020. Inhibitory effect of a mouth rinse formulated with chlorhexidine gluconate, ethanol, and green tea extract against major oral bacterial species. *J. Oral. Sci.* 62, 206-211.

Nomura, R., Y. Nagasawa, T. Misaki, S. Ito, S. Naka, M. Okunaka, M. Watanabe, K. Tsuzuki, M. Matsumoto-Nakano and K. Nakano. 2023. Distribution of periodontopathic bacterial species between saliva and tonsils. *Odontology.* 111, 719-727.

Novak, M. J., R. M. Potter, J. Blodgett and J. L. Ebersole. 2008. Periodontal disease in Hispanic Americans with type-2 diabetes. *J. Periodontol.* 79, 629-636.

Paunica, I., M. Giurgiu, A. S. Dumitriu, S. Paunica, A. M. P. Stoian, M. A. Martu and C. Serafinceanu. 2023. The Bidirectional relationship between periodontal disease and diabetes mellitus-a review. *Diagnostics Basel.* 11, 681.

Preshaw, P. M., A. L. Alba, D. Herrera, S. Jepsen, A. Konstantinidis, K. Makrilakis and R. Taylor. 2011. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia.* 55, 21-31.

Saito, A., M. Kikuchi, F. Ueshima, S. Matsumoto, H. Hayakawa, H. Masuda and T. Makiishi. 2009. Assessment of oral self-care in patients with periodontitis: A pilot study in a dental

school clinic in Japan. BMC Oral Health. 29, 27.

Sakura, H., Y. Tanaka and Y. Iwamoto. 2010. Seasonal fluctuations of glycated hemoglobin levels in Japanese diabetic patients. Diabetes Res. Clin. Pract. 88, 65-70.

Sanz, M., A. M. D. Castillo, S. Jepsen, J. R. Gonzalez-Juanatey, F. D'Aiuto, P. Bouchard, I. Chapple, T. Dietrich, I. Gotsman, F. Graziani, D. Herrera, B. Loos, P. Madianos, J. Michel, P. Perel, B. Pieske, L. Shapira, M. Shechter, M. Tonetti, C. Vlachopoulos and G. Wimmer. 2020. Periodontitis and cardiovascular diseases; Consensus report. J. Clin. Periodontol. 47, 268-288.

Socransky, S. S., A. D. Haffajee, M. A. Cugini, C. Smith and R. L. Kent. 1998. Microbial complexes in subgingival plaque. J. Clin. Periodontol. 25, 134-144.

Socransky, S. S. and A. D. Haffajee. 2002. Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. Periodontol 2000. 28, 12-55.

Tanaka, T. and T. Horie. 2022. Development of an in vitro biofilm formation model for screening anti-periodontal disease agents. Am. J. Dent. 35, 323-328.

Taylor, G. W., W. S. Borgnakke. 2008. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. Oral Dis. 14, 191-203.

Teeuw, W. J., V. E. A. Gerdes and B. G. Loos. 2010. Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: A systematic review and meta-analysis. Diabetes Care. 33, 421-427.

Watanabe, K. and T. O. Frommel. 1996. *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola* detection in oral plaque samples using the polymerase chain reaction. J. Clin. Periodontol. 23, 212-219.

Weykamp, C. 2013. HbA1c: A review analytical and clinical aspects. Ann. Lab. Med. 33, 393-400.

van der Maarel-Wierink, C. D., J. N. O. Vanobbergen, E. M. Bronkhors, J. M. G. A. Schols and C. de Baat. 2013. Oral health care and aspiration pneumonia in frail older people: A systematic literature review. Gerodontology. 30, 3-9.

Van Leeuwen. M. P. C., D. E. Slot and G. A. Van der Weijden. 2011. Essential oils compared to chlorhexidine with respect to plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *J. Periodontol.* 82, 174-94.

Zheng, Y., S. H. Ley and F. B. Hu. 2018. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat. Rev. Endocrinol.* 14, 88-98.

表1 本研究における分析対象者（173人）の概要

項目	平均 ± 標準誤差 [中央値]
年齢（歳）	66.9 ± 0.7 [68]
HbA1c 値（%）	7.4 ± 0.0 [7.4]
2型糖尿病の罹病期間（年）	13.5 ± 0.6 [13]
BMI（kg/m ² ）	23.7 ± 0.2 [23.6]

表2 本研究で用いたプライマー

使用目的	名称	塩基配列 (5'→3')	増幅 サイズ (bp)	文献
細菌 DNA 抽出の 確認	PA PD	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG GTA TTA CCG CGG CTG CTG	315	Edwards ら (1989)
<i>Porphyromonas gingivalis</i> の検出	<i>Pg</i> -F <i>Pg</i> -R	CCG CAT ACA CTT GTA TTA TTG CAT GAT A AAG AAG TTT ACA ATC CTT AGG ACT GTC T	267	Ashimoto ら (1996)
<i>Treponema denticola</i> の検出	<i>Td</i> -F <i>Td</i> -R	AAG GCG GTA GAG CCG CTC A AGC CGC TGT CGA AAA GCC CA	311	Ashimoto ら (1996)
<i>Tannerella forsythia</i> の検出	<i>Tf</i> -F <i>Tf</i> -R	GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T	641	Watanabe ら (1996)
<i>Capnocytophaga ochracea</i> の検出	<i>Co</i> -F <i>Co</i> -R	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG GAT GCC GTC CCT ATA TAC TAT GGG G	185	Conrads ら (1996)
<i>Capnocytophaga sputigena</i> の検出	<i>Cs</i> -F <i>Cs</i> -R	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG GAT GCC GCT CCT ATA TAC CAT TAG G	185	Conrads ら (1996)
<i>Prevotella intermedia</i> の検出	<i>Pi</i> -F <i>Pi</i> -R	TTT GTT GGG GAG TAA AGC GGG TCA ACA TCT CTG TAT CCT GCG T	575	Ashimoto ら (1996)
<i>Prevotella nigrescens</i> の検出	<i>Pn</i> -F <i>Pn</i> -R	ATG AAA CAA AGG TTT TCC GGT AAG CCC ACG TCT CTG TGG GCT GCG A	804	Ashimoto ら (1996)
<i>Campylobacter rectus</i> の検出	<i>Cr</i> -F <i>Cr</i> -R	TTT CGG AGC GTA AAC TCC TTT TC TTT CTG CAA GCA GAC ACT CTT	598	Ashimoto ら (1996)
<i>Aggregatibacter actinomycetem- comitans</i> の検出	<i>Aa</i> -F <i>Aa</i> -R	CTA GGT ATT GCG AAA CAA TTT G CCT GAA ATT AAG CTG GTA ATC	262	Ashimoto ら (1996)
<i>Eikenella corrodens</i> の検出	<i>Ec</i> -F <i>Ec</i> -R	CTA ATA CCG CAT ACG TCC TAA G CTA CTA AGC AAT CAA GTT GCC C	688	Ashimoto ら (1996)

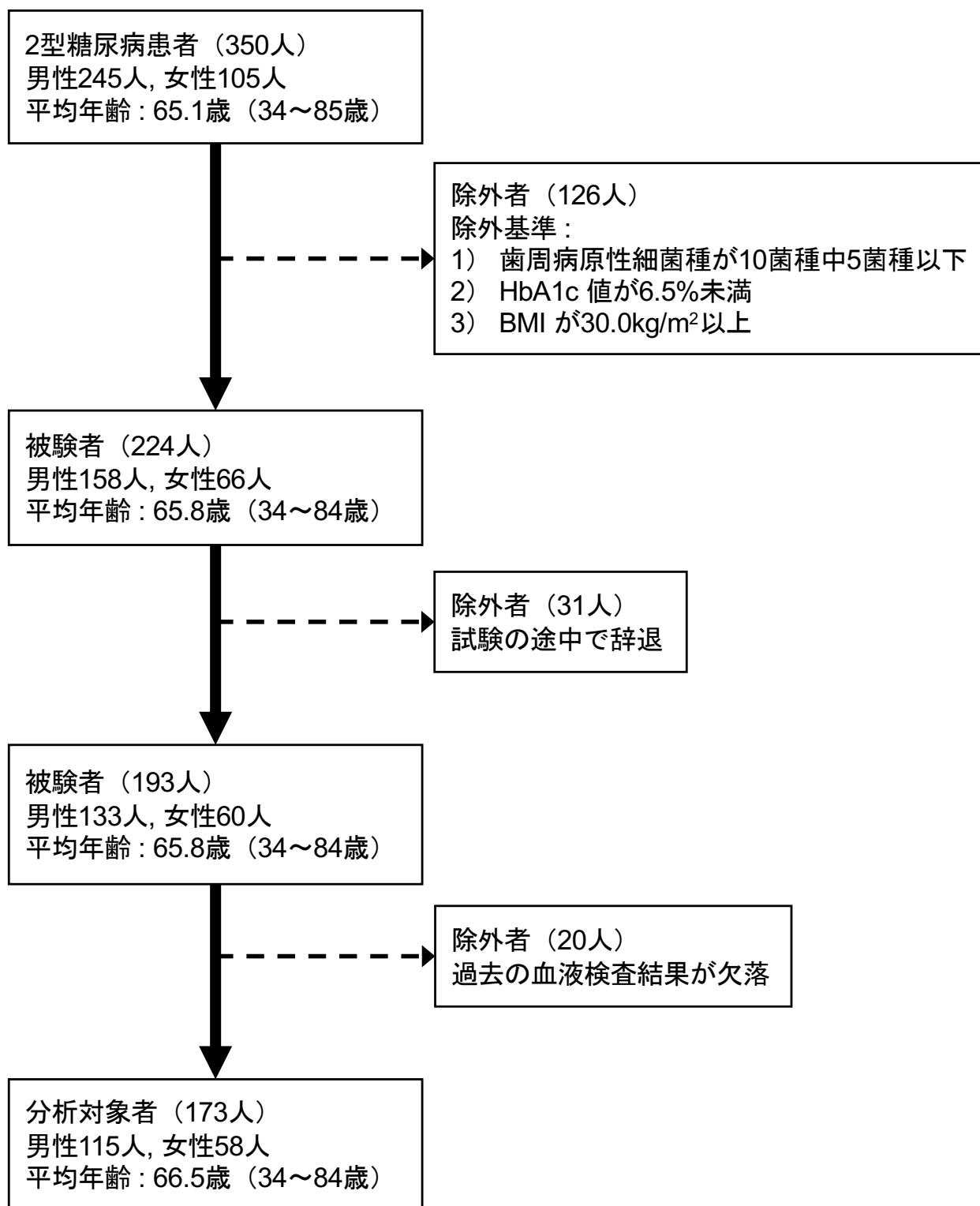


図1 本研究における分析対象者の選択

大阪府内の糖尿病内科クリニックにおいて、2型糖尿病と診断された患者のうち同意が得られた350人（男性245人, 女性105人; 34~85歳）を対象とした。そのうち、試験開始時に主要な歯周病原性細菌が10菌種中5菌種以下しか検出されなかった患者、HbA1c 値が6.5%未満の患者およびBMI が30.0kg/m² 以上の患者 126 人を除外した。さらに、試験の途中で参加を辞退した31人および過去の血液検査結果に欠落が多い20人を除外し、最終的に173人（男性115人, 女性58人; 34~84歳）を分析対象者とした。

1 月	朝	昼	晩
1 日	○	○	○
2 日	○	○	○
3 日	○	○	○
4 日	○	○	○
5 日	○	○	○
6 日	○	○	○
7 日	○		○
8 日	○		○
9 日	○	○	○
10 日	○	○	○
11 日	○		○
12 日	○	○	○
13 日	○	○	○
14 日	○		○
15 日	○	○	○

1 月	朝	昼	晩
16日	○	○	○
17日	○		○
18日	○	○	○
19日	○	○	○
20日	○	○	○
21日	○	○	○
22日	○	○	○
23日	○		○
24日	○		○
25日	○	○	○
26日	○	○	○
27日	○	○	○
28日		○	○
29日	○	○	○
30日	○	○	○
31日	○	○	○

1日平均：2.4回

図2 被験者ごとに手渡した記録簿の記入の一例

試験開始時に被験者ごとに記録簿を手渡した。朝・昼・晩の1日3回、洗口を行った場合に指定の記載欄へ「○」を記入するように指示した。研究期間中、糖尿病内科クリニック受診時に持参を指示し、洗口状況の確認を行った。研究終了後、記録簿を回収し、対象者が実際に実施できた洗口回数を確認し、1日あたりの平均の洗口回数を算出した。

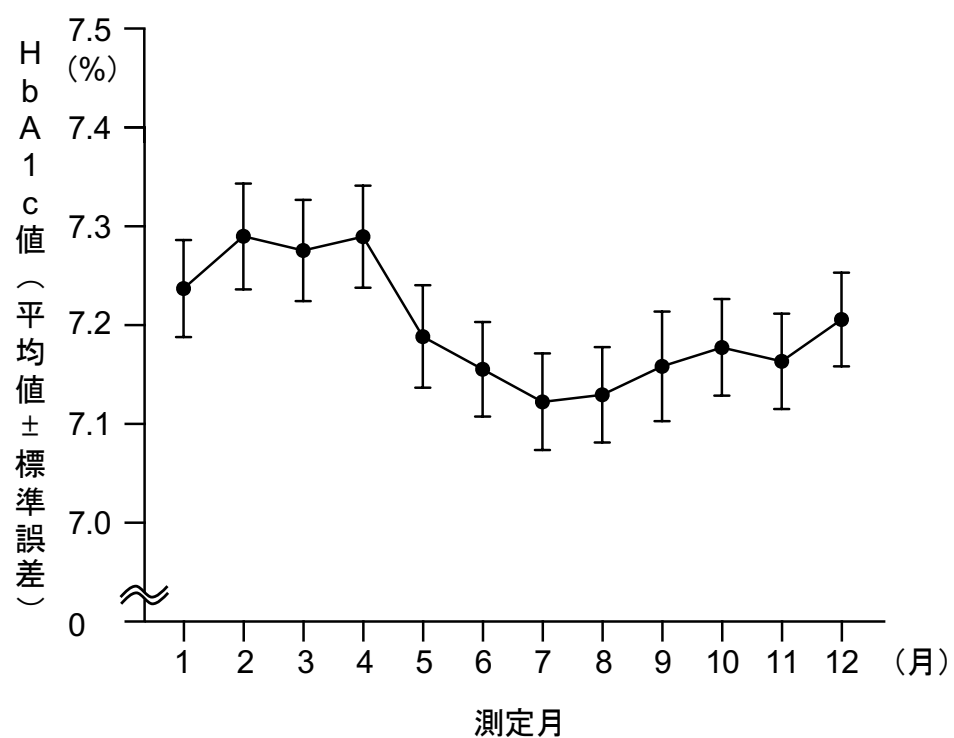


図3 1日あたりの洗口回数が平均1.5回以上の分析対象者（161人）における年間の HbA1c 値の推移
診療録より過去の HbA1c 値のデータを収集し、測定月ごとに平均値を算出したところ、過去の HbA1c 値の平均値は2～4月に高値を示し、7～8月に低値を示した。

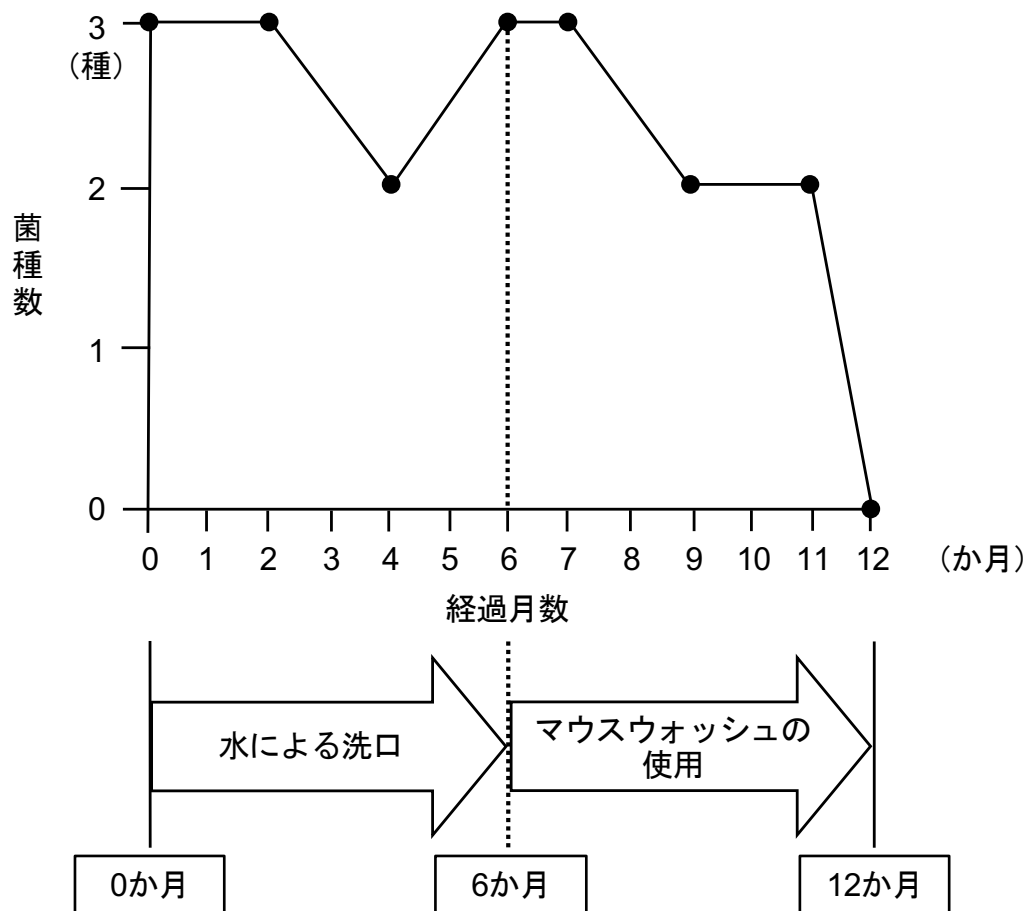


図4 試験期間内におけるレッドコンプレックス菌種数の経時的変化の1例（登録番号：49）

当該被験者では、0か月時と比較して、6か月時ではレッドコンプレックス菌種数に明確な変化は認められなかったが、12か月時においてレッドコンプレックス菌種数の減少が認められた。

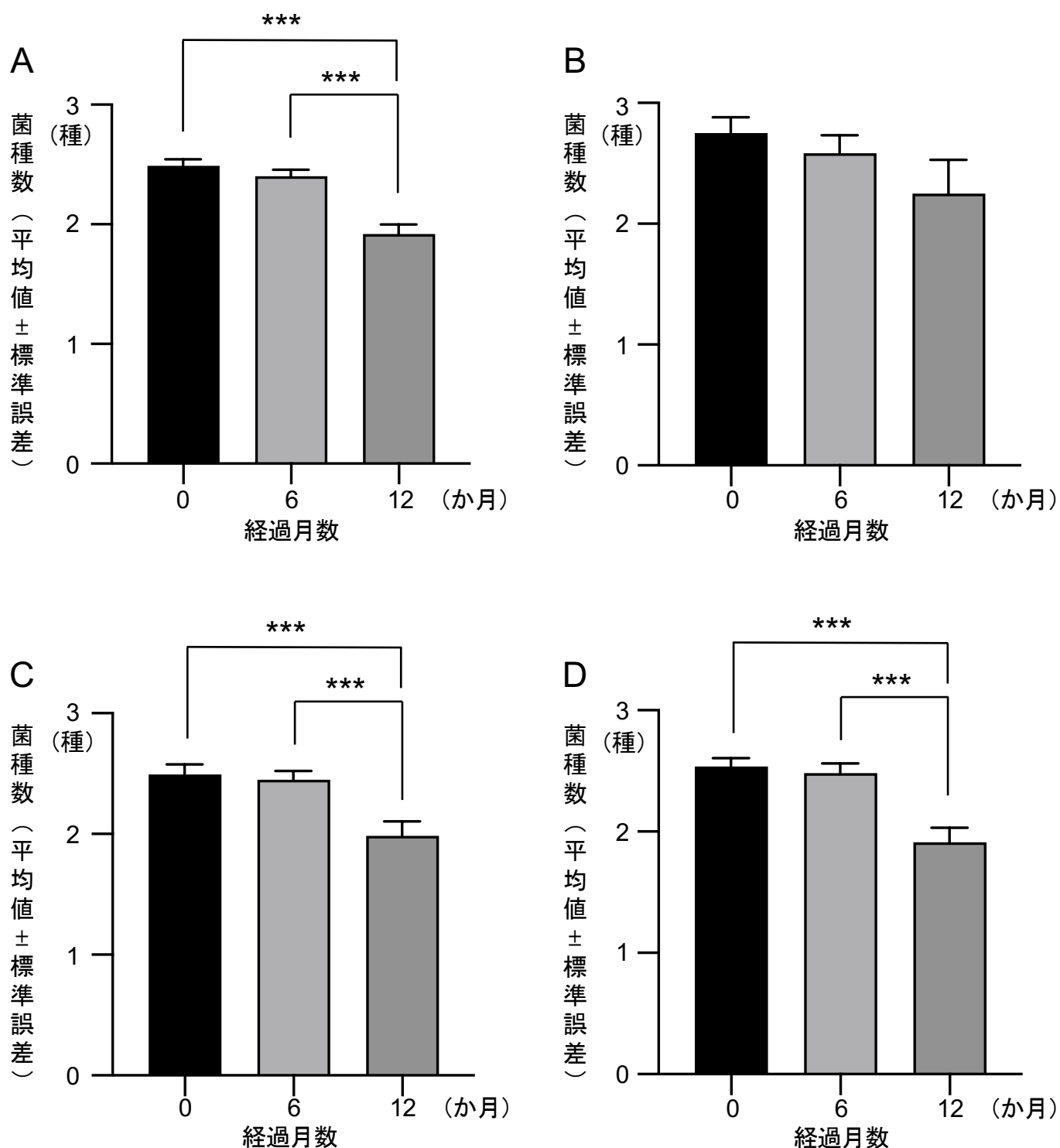


図5 分析対象者におけるレッドコンプレックス菌種数

A 分析対象者全体(173人)におけるレッドコンプレックス菌種数の変化

B 1日あたりの洗口回数が平均1.4回以下群 (12人) におけるレッドコンプレックス菌種数の変化

C 1日あたりの洗口回数が平均1.5～2.4回群 (80人) におけるレッドコンプレックス菌種数の変化

D 1日あたりの洗口回数が平均2.5～3回群 (81人) におけるレッドコンプレックス菌種数の変化

(ANOVA の後 Bonferroni 法; *** $P<0.001$)

A、C、Dにおいては12か月時に0か月時および6か月時と比較して有意な減少が認められた。Bにおいては0か月時、6か月時および12か月時の3時点に有意な変化は認められなかった。

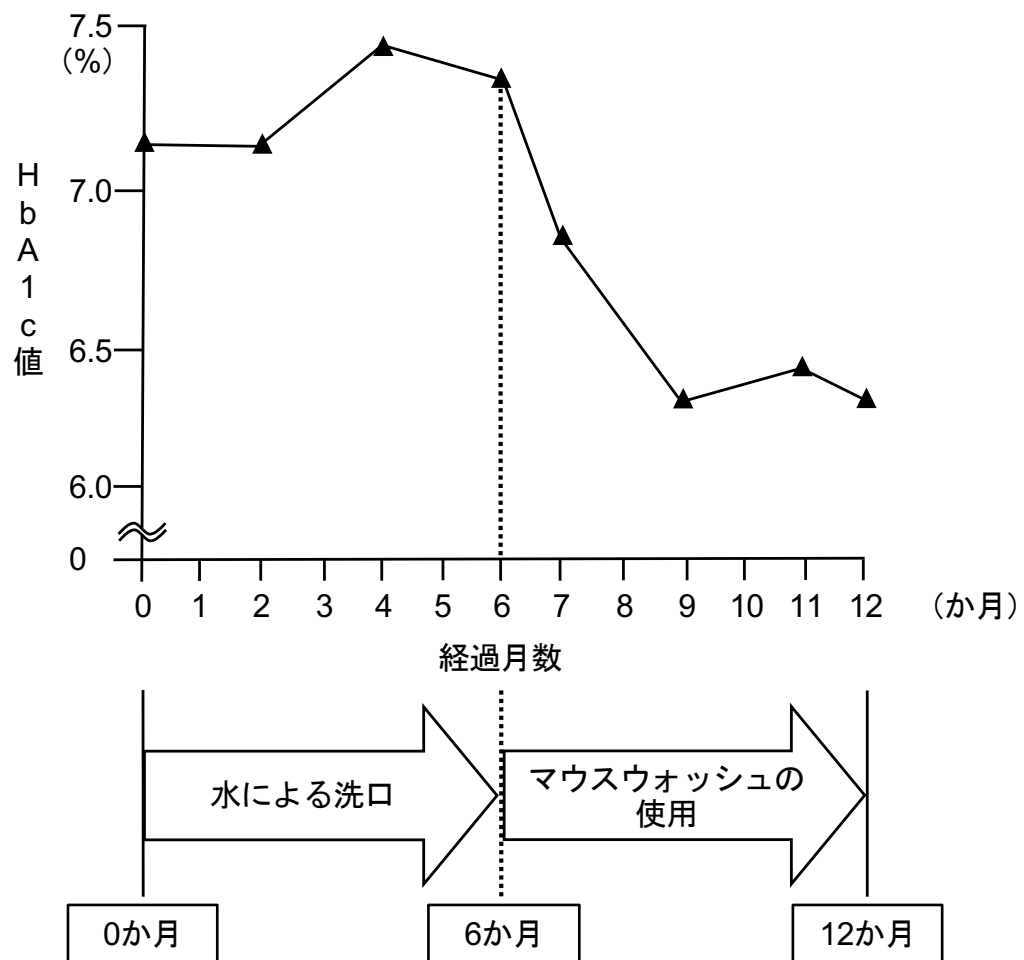


図6 試験期間内における HbA1c 値の経時的変化の1例（登録番号：49）

当該被験者では、0か月時と比較して、6か月時では HbA1c 値に明確な変化は認められなかったが、12か月時において HbA1c 値の減少が認められた。

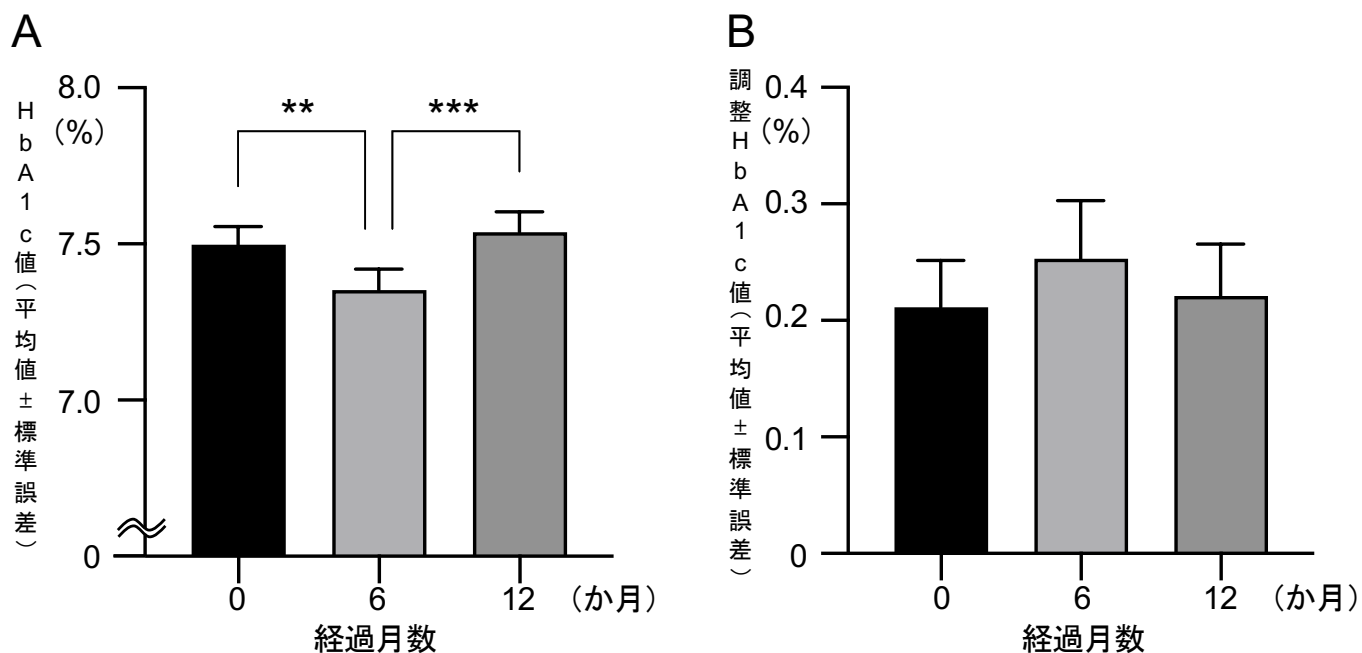


図7 1日あたりの洗口回数が平均1.5～3回の分析対象者（161人）における HbA1c 値と調整 HbA1c 値

A 1日あたりの洗口回数が平均1.5～3回の分析対象者における HbA1c 値

B 1日あたりの洗口回数が平均1.5～3回の分析対象者における調整 HbA1c 値

(ANOVA の後 Bonferroni 法; ** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$)

HbA1c 値は、6か月時において0か月時および12か月時と比較して有意な低値が認められた。一方で、それぞれの HbA1c 値から過去の同月の HbA1c 値の平均値を差し引いて算出した調整 HbA1c 値においては、0か月時、6か月時および12か月時の3時点において有意な差は認められなかった。

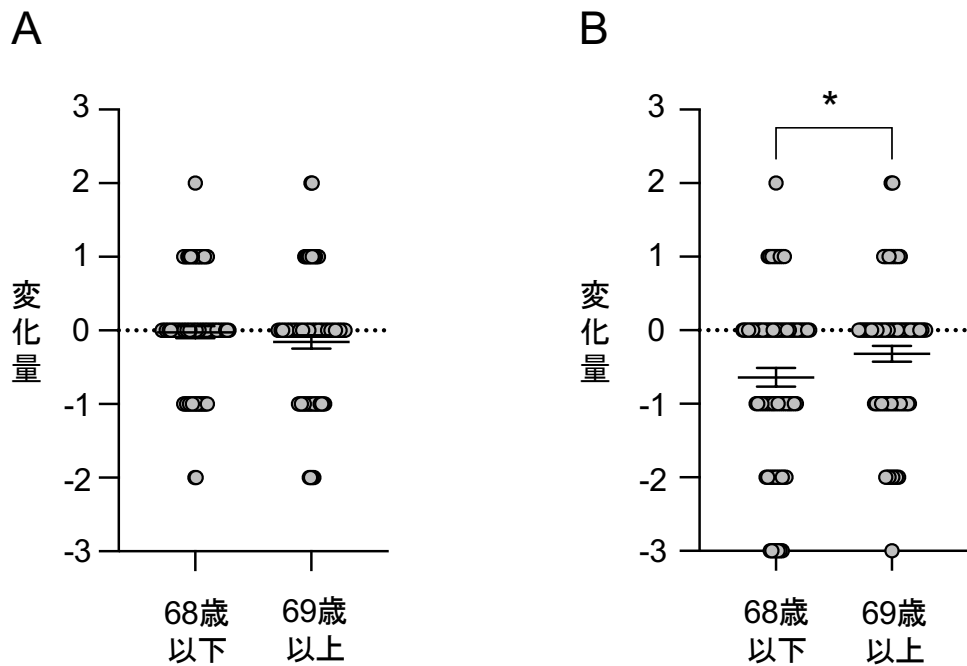


図8 被験者の年齢を2群に分け比較した際のレッドコンプレックス菌種数の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量

（バー：平均値±標準誤差，Student の t 検定；* $P<0.05$ ）

水による洗口（0～6か月）における変化量は、68歳以下の群（83人）および69歳以上の群（78人）の両群において有意な変化は認められなかった。一方で、マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量は、68歳以下の群は69歳以上の群と比較して有意な減少が認められた。

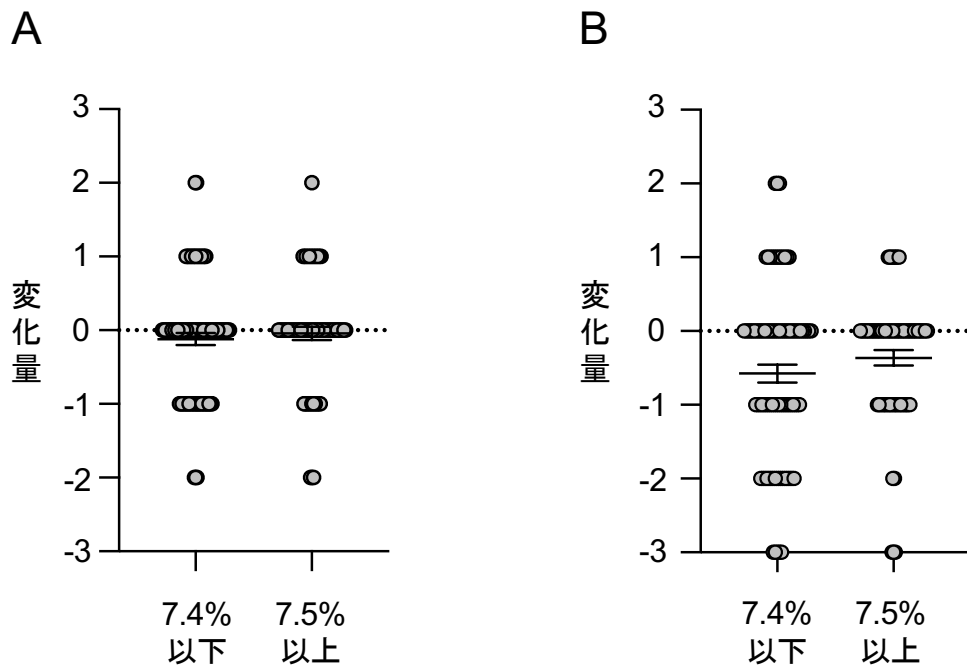


図9 被験者の試験開始時の HbA1c 値で2群に分け比較した際のレッドコンプレックス菌種数の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量

（バー：平均値±標準誤差）

水による洗口（0～6か月）における変化量とマウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量ともに、7.4%以下の群（92人）および7.5%以上の群（69人）の両群において有意な変化は認められなかった。

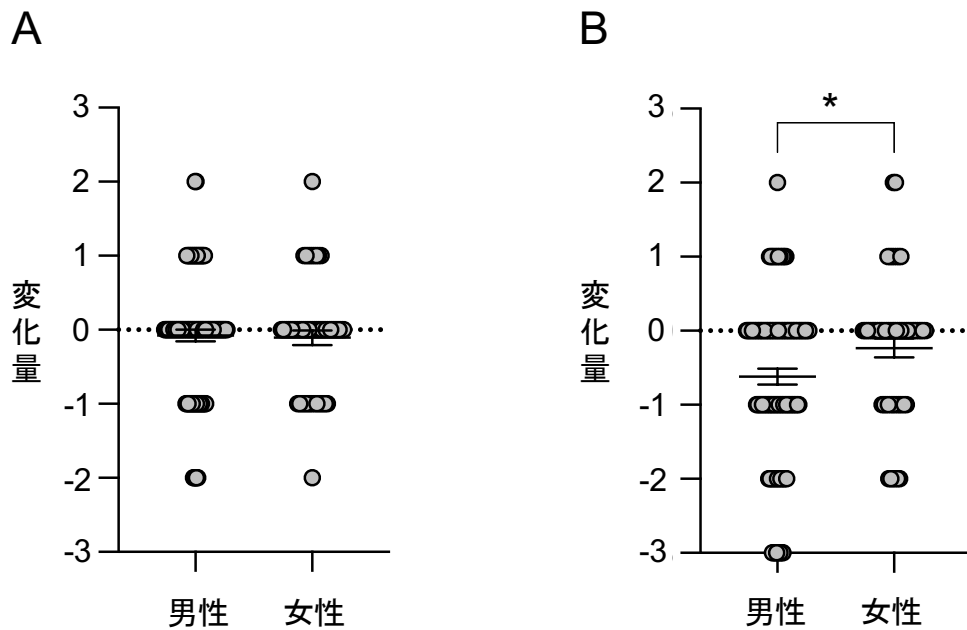


図10 被験者の性別で2群に分け比較した際のレッドコンプレックス菌種数の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量

（バー：平均値±標準誤差，Student の t 検定；* $P<0.05$ ）

水による洗口（0～6か月）における変化量は、男性群（105人）および女性群（56人）の両群において有意な変化は認められなかった。一方で、マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量は、男性群は女性群と比較して有意な減少が認められた。

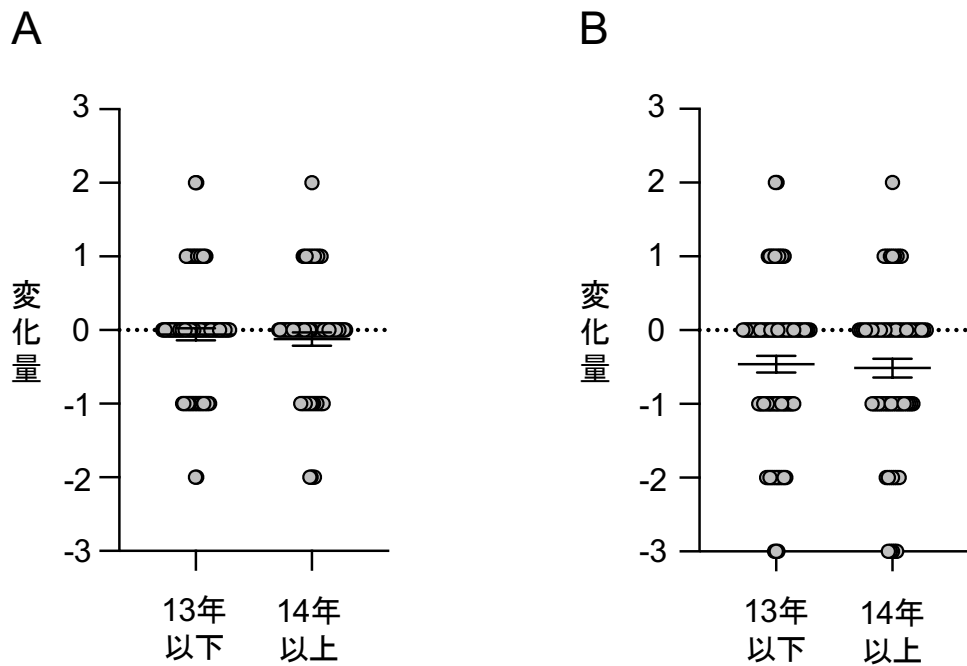


図11 被験者の罹病期間で2群に分け比較した際のレッドコンプレックス菌種数の変化量

A 水による洗口 (0~6か月) における変化量

B マウスウォッシュの使用 (6~12か月) における変化量

(バー：平均値±標準誤差)

水による洗口 (0~6か月) における変化量とマウスウォッシュの使用 (6~12か月) における変化量ともに13年以下の群 (87人) および14年以上の群 (74人) の両群において有意な変化は認められなかった。

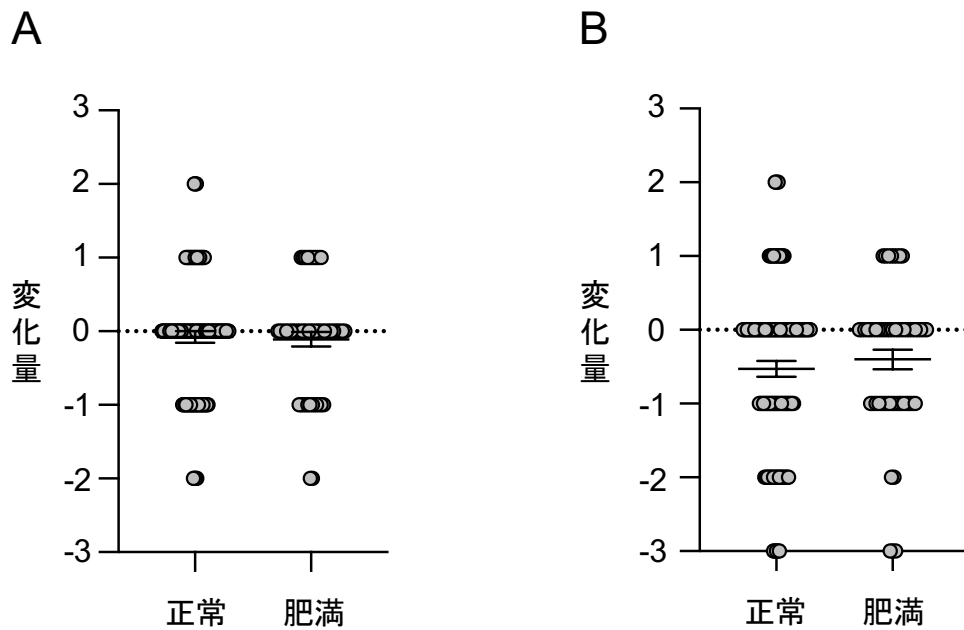


図12 被験者のBMI（正常群：25.0kg/m²未満, 肥満群：25.0kg/m²以上）で2群に分け比較した際のレッドコンプレックス菌種数の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量

（バー：平均値±標準誤差）

水による洗口（0～6か月）における変化量とマウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量ともに、正常群（110人）および肥満群（51人）の両群において有意な変化は認められなかった。

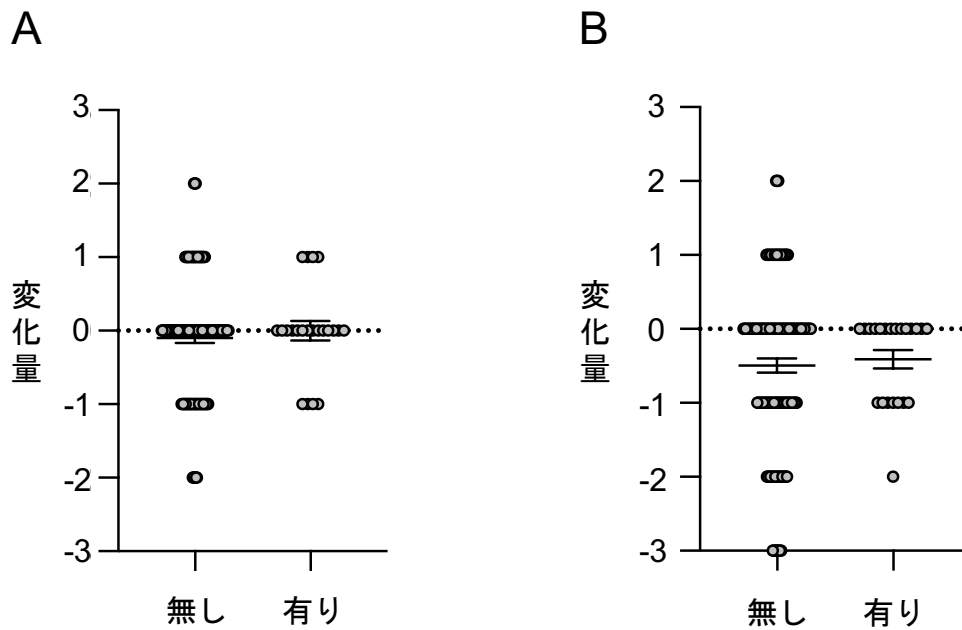


図13 被験者の試験開始時のインスリンの使用の有無で2群に分け比較した際のレッドコンプレックス菌種数の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量

（バー：平均値±標準誤差）

水による洗口（0～6か月）における変化量とマウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量ともに、インスリンの使用の無し群（139人）および有り群（22人）の両群において有意な変化は認められなかった。

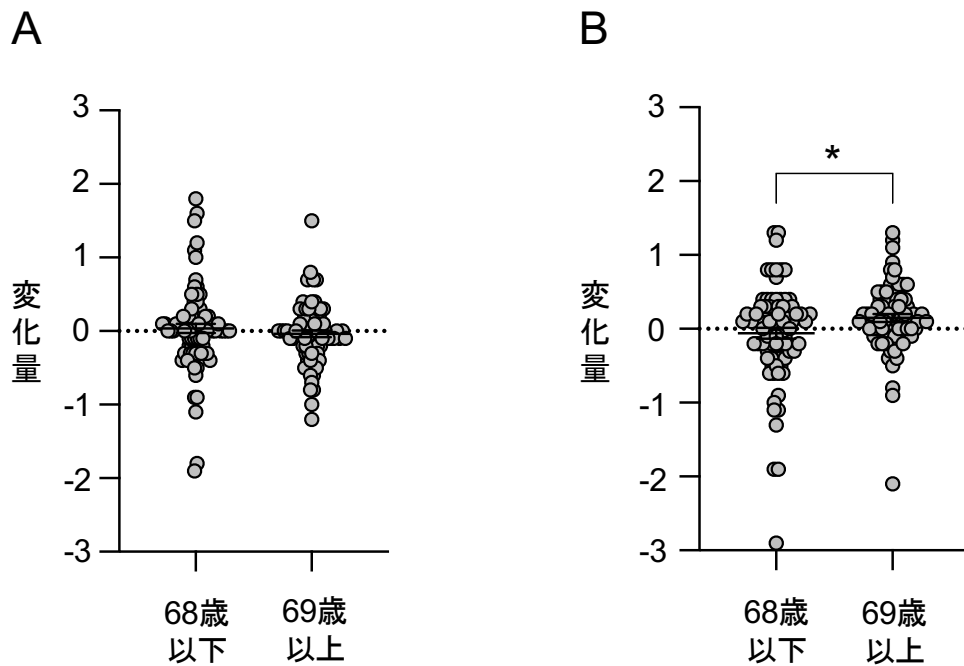


図14 被験者の年齢で2群に分け比較した際の調整 HbA1c 値の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量

（バー：平均値±標準誤差，Student の t 検定；* $P<0.05$ ）

水による洗口（0～6か月）における変化量は、68歳以下の群（83人）および69歳以上の群（78人）の両群において有意な変化は認められなかった。一方で、マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量は、68歳以下の群は69歳以上の群と比較して、有意な減少が認められた。

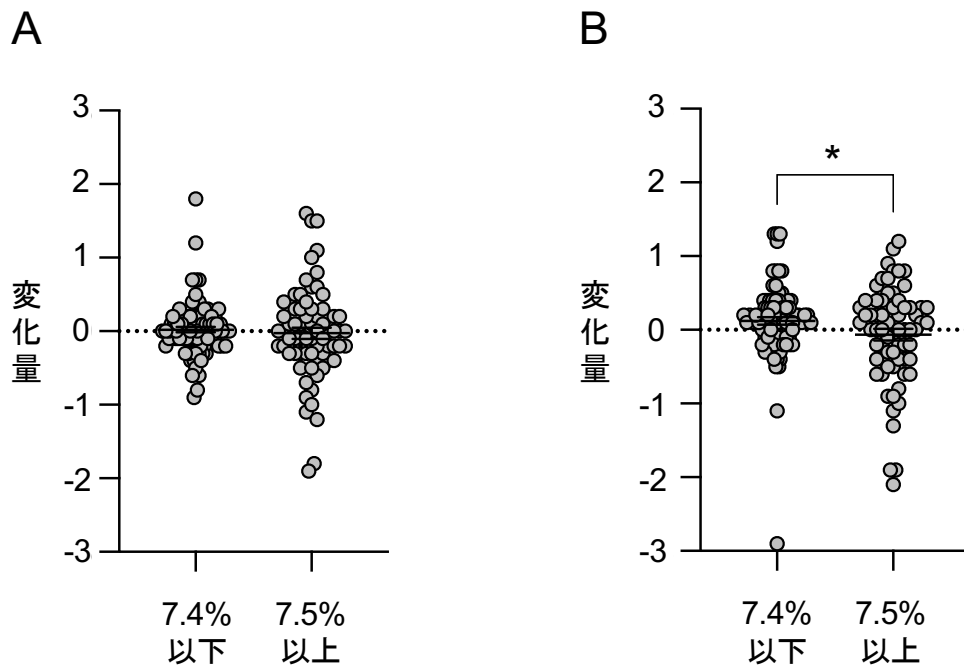


図15 被験者の試験開始時の HbA1c 値で2群に分け比較した際の調整 HbA1c 値の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量は7.4%以下であった群および7.5%以上であった群の両群において有意な変化は認められなかった。

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量は、7.5%以上であった群は、7.4%以下であった群と比較して、有意な減少を認めた。

（バー：平均値±標準誤差，Student の t 検定；* $P<0.05$ ）

水による洗口（0～6か月）における変化量は7.4%以下であった群（92人）および7.5%以上であった群（69人）の両群において有意な変化は認められなかった。一方で、マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量は、7.5%以上であった群は7.4%以下であった群と比較して、有意な減少が認められた。

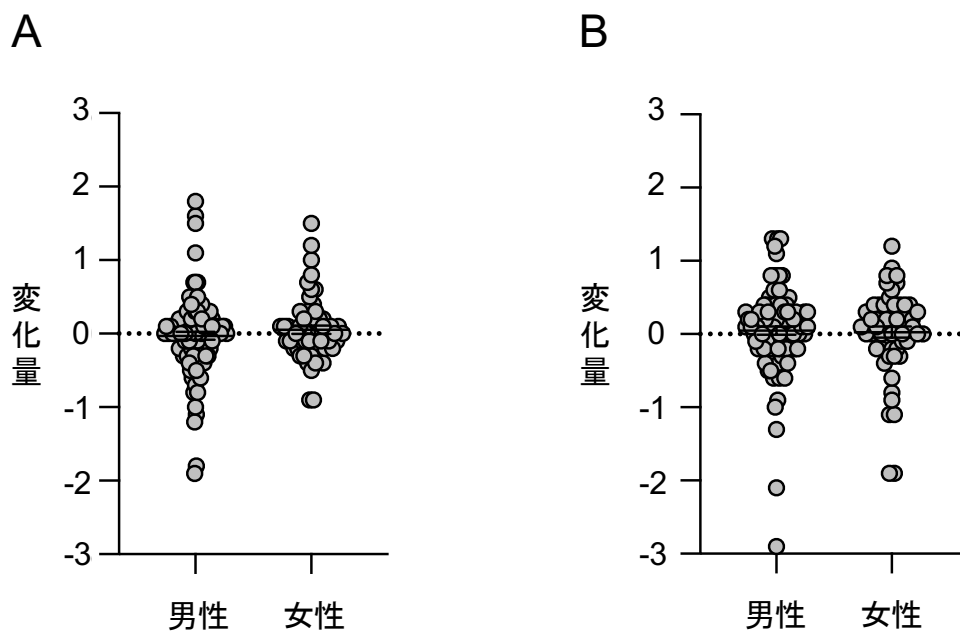


図16 被験者の性別で2群に分け比較した際の調整 HbA1c 値の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量は

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量は

（バー：平均値±標準誤差）

水による洗口（0～6か月）における変化量とマウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量ともに、男性群（105人）および女性群（56人）の両群において有意な変化は認められなかった。

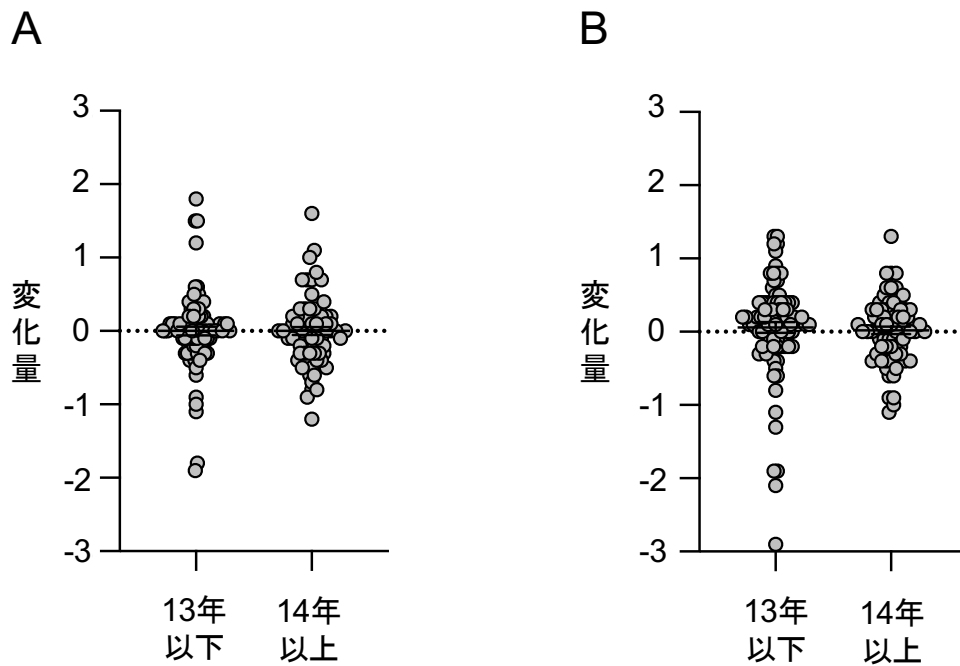


図17 被験者の罹病期間で2群に分け比較した際の調整 HbA1c 値の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量

（バー：平均値±標準誤差）

水による洗口（0～6か月）における変化量とマウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量ともに、13年以下の群（87人）および14年以上の群（74人）の両群において有意な変化は認められなかった。

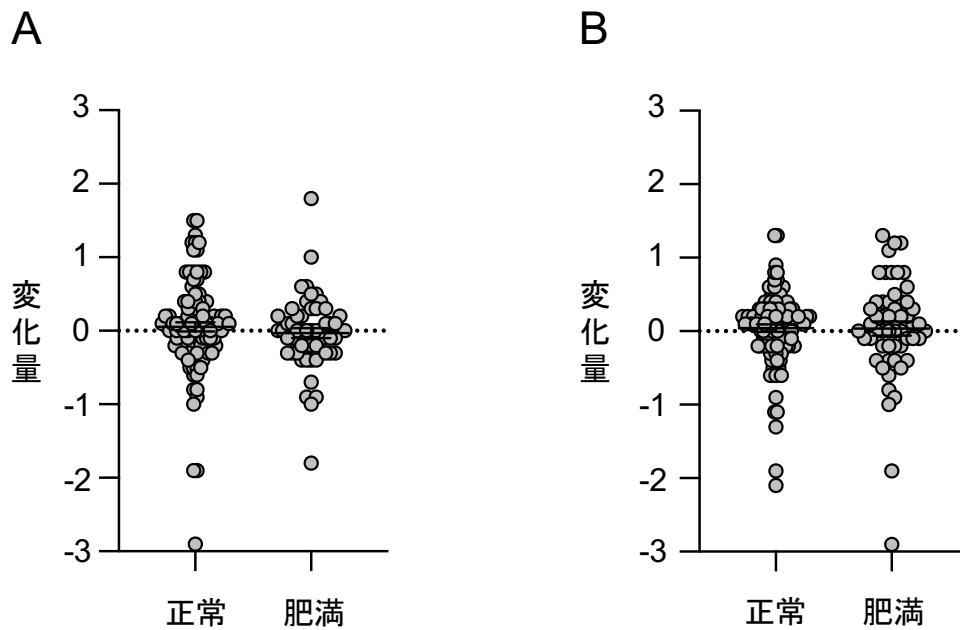


図18 被験者のBMI（正常群：25.0kg/m²未満, 肥満群：25.0kg/m²以上）で2群に分け比較した際の調整HbA1c 値の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量

（バー：平均値±標準誤差）

水による洗口（0～6か月）における変化量とマウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量ともに、正常群（110人）および肥満群（56人）の両群において有意な変化は認められなかった。

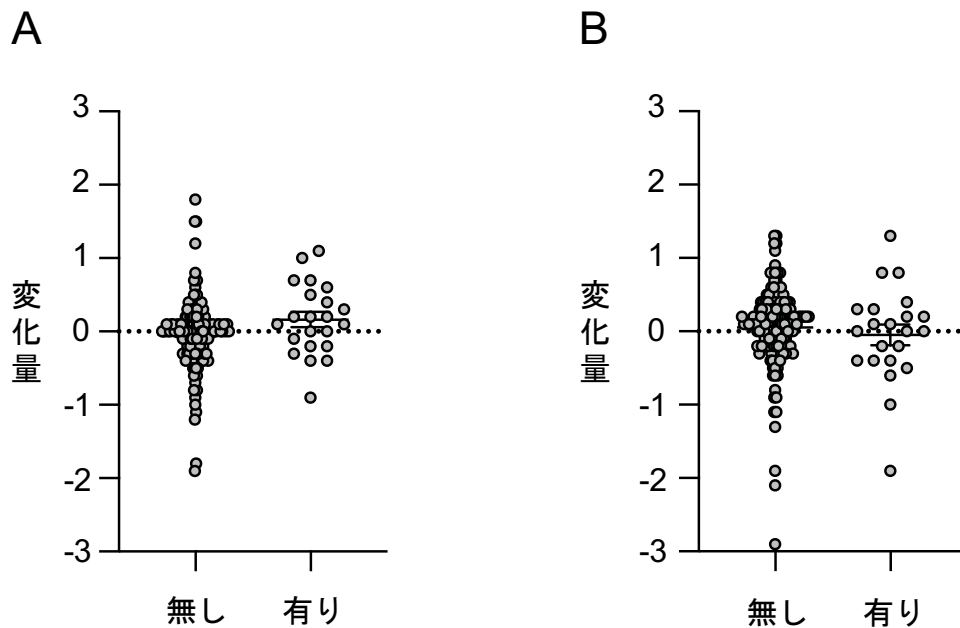


図19 被験者の試験開始時のインスリンの使用の有無で2群に分け比較した際の調整 HbA1c 値の変化量

A 水による洗口（0～6か月）における変化量

B マウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量

（バー：平均値±標準誤差）

水による洗口（0～6か月）における変化量とマウスウォッシュの使用（6～12か月）における変化量ともに、インスリンの使用の無し群（139人）および有り群（22人）の両群において有意な変化は認められなかった。