Osaka University Knowledge Archive

Title	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
Author(s)	北村, 正博
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/37082
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

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

北村正博

大阪大学歯学部口腔治療学講座

（指導：岡田　宏　教授）

Microbiological and Biochemical Investigation of Periodontal Disease Activity

Masahiro KITAMURA

Department of Periodontology and Endodontology, Osaka University Faculty of Dentistry

(Director: Prof. Hiroshi OKADA)

This investigation was designed to search diagnostic methods for measurement of periodontal disease activity. Subgingival plaque and gingival crevicular fluid (GCF) were taken from active and inactive lesions in 10 subjects with untreated adult periodontitis, and also from 7 subjects whose periodontitis were maintained after periodontal treatment. Active diseased sites were defined as the pockets showing more than 2mm loss of connective attachment during a 42-day monitoring period without any periodontal treatment and recall period, respectively. Inactive diseased sites had comparable pocket depth to the active sites, but connective attachment level did not change during the each monitoring period. Subgingival plaque bacteria, and prostaglandin E_2 (PGE_2), interleukin-1 (IL-1), collagenase activity and lipopolysaccharide (LPS) in GCF were compared in active sites with those in inactive sites.

In untreated periodontitis patients, PGE_2 in GCF and absolute counts of subgingival plaque bacteria were significantly higher in active sites. IL-1α, IL-1β, active collagenase in GCF and the proportion of motile rods were elevated more often in active sites. In maintained periodontitis patients, absolute counts of bacteria were significantly higher in active sites, and PGE_2 in GCF was elevated more often in active sites.

A linear discriminant analysis of the data was shown to be useful for

detecting active sites in untreated periodontitis, because each test could not detect them by itself. The combination of PGE_2, IL-1α, IL-1β, LPS and collagenase, was most useful to detect the active sites, and their sensitivity and specificity for detecting the active lesions were 62% and 100%, respectively.

This linear discriminant analysis was applied to adult periodontitis. Periodontal diseased sites of which the discriminant score (Z) were >0 responded less well to initial therapy than those of which Z were <0. The results suggest that the diagnostic methods for periodontal disease activity shown in this investigation might be useful to measurement of periodontal disease activity.

Key words: Periodontal disease activity, Subgingival plaque, Gingival crevicular fluid, Diagnostic method, Linear discriminant analysis

要　旨

歯周炎の疾病活動度の診断方法を探求する目的で、未治療およびメインテナンス中の歯周炎患者のアタッチメントレベルを経時的に測定して歯周炎の活動部位と休止部位を選別し、各々の歯肉縁下プラーク細菌および歯肉溝浸出液（GCF）の各種検査結果を比較した。未治療の歯周病変において各種検査は単独では活動部位と休止部位を十分に判別できなかったが、GCF中のプロスタグランディンE_2濃度、インターロイキン1αおよびβ濃度、コラゲナーゼ活性およびリポ多糖濃度の検査結果を組み合わせた線形判別分析により、62％の感度と100％の特異度で両部位が判別された。また、メインテナンス中の歯周病変では各種検査の中で総菌数が82％の感度と82％の特異度で両部位を最もよく判別した。さらに、得られた両部位の判別方法を歯周炎の診断に応用した結果、初期治療がより有効な病変とそうでない病変を治療開始前においてある程度の確率で判別できる可能性が示唆された。

索引用語：疾病活動度、歯肉縁下プラーク、歯肉溝浸出液、診断方法、線形判別分析

緒　言

歯周病は、歯周組織が長期にわたり持続的にゆっくりと破壊される慢性の炎症性疾患であると従来から考えられてきた。しかし最近の研究ではその概念とは異なり、歯周組織破壊は個々の部位において比較的短期間に起こり、その後は長期間の非活動期が続くことが示され[1~3]、歯周疾患は部位特異的に活動期と休止期を繰り返しながら進行していく炎症性疾患であるという概念[4]が受け入れられるようになってきた。この概念に立脚すると、歯周組織破壊の生じる歯周炎の活動期を個々の部位において正しく診断できれば、合理的な歯周治療を行うことが可能と考えられる。

臨床の場では従来から、歯肉炎指数（GI）、プロービング時の出血、ポケット深さ（PD）などの種々の臨床的パラメーターを用いて歯周炎の診査診断を行っている。しかし、これらの臨床的パラメーターは、歯周組織の過去の既往と現在の状態を示すだけのもので、これ

らのパラメーターにより病態を読み取り病気の行く末を予測することは大変困難であることが示されてきた[5~11]。

そこで、活動期病変であると診断するためには、現行の診査方法ではプロービングによるアタッチメントレベル（AL）を経時的に測定して、その結果から判断せざるを得ない[12]。すなわち、最低２つの時点におけるALを測定してALの変化量であるアタッチメントロス（ALOSS）を求める必要があるが、このALOSSによる診査では活動期病変であったという結果を知る可能性が高く、活動期を予知あるいは早期に診断することはできない。そのため、１回の検査によって活動期を予知あるいは極めて早期に診断できるような断面的な検査方法が望まれている。

歯周炎は、歯肉縁下プラーク細菌によって惹起されまた増悪する炎症性疾患であり[13~16]、宿主の応答性や生体防御機構により、その病態は大きく影響されると考えられている。

それゆえ、歯周炎の活動期を診断するためには、原因因子である歯周ポケット内細菌とそれに対する生体応答の両面から歯周病変を定性的および定量的に解析する必要があると考えられる[8,17]。

本研究では、未治療およびメインテナンス中の歯周病変をALの経時的変化からALOSSの起こった活動部位と起こらなかった休止部位に選別した。そして、ALOSSが起こった直後の歯周病変では活動期の疾病活動性がなお保持されている可能性が高いと考え、両部位における歯周ポケット内細菌の検索と、歯周病変部局所の生体応答を敏感に反映していると考えられている歯肉溝浸出液（GCF）中の炎症反応のメディエーター（プロスタグランディンE_2、インターロイキン1α、インターロイキン1βおよびコラゲナーゼ）の定量を同時に行い、その測定値から未治療およびメインテナンス中の歯周病変の活動部位と休止部位を判別する方法について検討した。ついで、得ら

れた判別方法を歯周炎の診断に応用して、その有用性について検討した。

材料および方法

1. 被験者

研究Ⅰでは、大阪大学歯学部附属病院に来院し、辺縁性歯周炎と診断され、全身疾患の既往のない、かつ過去2年以内に歯周治療を受けた経験のない未治療の患者10名（26～49歳、平均38.8歳）を被験者とした。研究Ⅱでは、同附属病院で歯周治療が施された後、なお1～11mmの歯周ポケットが残存しているため2～3ヵ月毎のメインテナンスリコールが定期的に行われ、過去6ヵ月間に抗生剤を投与されていない患者7名（39～60歳、平均47.0歳）を被験者とした。研究Ⅲでは、同附属病院で辺縁性歯周炎と診断され、過去2年以内に歯周治療を受けていない患者19名（24～53歳、平均39.4歳）を被験者とした。

2. 研究スケジュールおよび被験部位の選択

1）研究Ⅰ

10名の被験者の第3大臼歯を除く全ての残存歯の頬側および舌側の近心、中央、遠心の

6部位、総計1539部位を被験部位とした。

図1に示したように、未治療のまま1週目(A1)と2週目(A2)、また6週目(A3)と7週目(A4)の計4回、診査用模型から作製したステントを用いてALの測定を行い(以下このようなポケットを未治療の歯周病変という)、A1とA2の平均値とA3とA4の平均値を比較し、2mm以上のALOSSが認められた部位を活動部位とした。また、同一患者において、ALOSSが認められなかった部位のうち、A4での臨床所見がその活動部位と同程度の部位を選択し、休止部位とした。そして、活動部位および休止部位の両者から歯肉縁下プラークとGCFを採取した後、直ちに初期治療を開始した。

2)研究Ⅱ

7名の被験者の第3大臼歯を除く全ての残存歯の頰側および舌側の近心、中央、遠心の6部位、総計1035部位を被験部位とした。

図2に示した研究スケジュールに従い、被験者を2ヵ月毎にメインテナンスリコールして

経時的にALの測定を行った。この研究Ⅱにおけるメインテナンスプログラムは、口腔衛生指導および超音波スケーラーによる歯肉縁上プラークの除去にとどめ、歯周ポケット深部の処置および抗生剤の投与は行わなかった（以下このようなポケットをメインテナンス中の歯周病変という）。そして、前回のリコール時に比べ２mm以上のALOSSが測定された部位を活動部位とした。ついで、研究Ⅰと同様に休止部位を選択し、両部位から歯肉縁下プラークとGCFを採取した後、活動部位と判定された部位は直ちにルートプレーニング等の歯周治療を行った。

３）研究Ⅲ

19名の被験者の口腔内から初診時に５mm以上のポケット深さを有する34部位を被験部位として選択し、初診時に被験部位から歯肉縁下プラークとGCFを採取するとともに、同部位の臨床評価を行った。その後、口腔衛生指導、スケーリング、ルートプレーニングを中心と

した初期治療（3～10ヵ月間、平均5.5ヵ月間）を行い、再評価時に再度、臨床評価を行うとともに、歯肉縁下プラークとGCFを採取した。

3. アタッチメントレベル（AL）の測定

ALは、Erkodur（ERKODENT、Pfalzgrafen-weiler、West Germany）を用いて作製したステントの基準点からポケット底部までの距離（mm）として測定した。

4. 臨床評価

被験部位の臨床評価は、以下の臨床的パラメーターを用いて行った。

1）歯肉炎指数（GI）：LöeとSilness[18]の基準に従い、健常歯肉を0、歯肉に軽度の炎症が存在するものを1、歯肉に中等度の炎症がみられ、歯周ポケットを探針で触れると出血するものを2、自然出血のみられる高度の炎症歯肉を3と評価した。

2）ポケット深さ（PD）：カラーコードプローベCP-12（Hu-Friedy、Chicago、IL.）を用いて約20gの測定圧で行い、1mm単位まで計測した。

3）プロービング時の出血の有無（BP）：PDを測定した後30秒以内に出血が認められたものを1、出血しなかったものを0とした。

4）プラーク指数（PlI）：SilnessとLöe[19]の基準に従い、プラークの付着がみられないものを0、探針の擦過により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観察されるものを2、歯面に多量のプラークが存在するものを3として評価した。

5．試料採取

1）歯肉縁下プラークの採取

歯肉縁下プラークの採取は、被験部位を簡易防湿後、滅菌小綿球にて歯肉縁上プラークを可及的に除去し、#40滅菌ペーパーポイント（Maillefer、Ballaigues、Switzerland）を、歯周ポケット底部まで挿入し30秒間放置することにより行った。

2）歯肉溝浸出液（GCF）の採取

GCFの採取は、歯肉縁下プラークを採取した後、250℃で2時間熱処理した2μlのガラス

毛細管（Drammond Sc. Co.、Broomall、PA.）を用いて行った。なお、採取したGCFは分析時までアルミホイルに包んで-80℃で凍結保存した。

6. 歯肉縁下プラーク細菌の検索

歯肉縁下プラークを採取したペーパーポイントは、直ちに100μlの滅菌蒸留水中に浸漬し、vortex mixerで10秒間攪拌してプラーク浮遊液とし、以下の検索に供した。

1）ペーパーポイントにより採取された総菌数の測定

10μlのプラーク浮遊液に10mg/mlのNaClを含む20%ホルマリン溶液を等量加え、混和した溶液を細菌計算盤（萱垣医理科工業、東京）に滴下し、位相差顕微鏡によって1000倍で検鏡した。そして、計算盤の1区画に存在する平均菌数を求め、ペーパーポイントにより採取された総菌数を算出した。

2）暗視野顕微鏡による検索

歯肉縁下プラーク細菌の暗視野顕微鏡による検索は、ListgartenとHelldén[20]の方法を

参考にして行った。すなわち、プラーク浮遊液をスライドガラスに滴下し暗視野顕微鏡にて1000倍で検鏡した。そして、プラーク細菌をその形態学的特徴および運動性からSpirochetes、Motile rods、Coccoid cellsおよびOthersの4種類に分類し、それぞれが細菌叢に占める存在比率(%)を求めた。

3)間接蛍光抗体法による特定細菌の検出

本研究で特定細菌として選択した*Actinomyces viscosus* ATCC 19246(Av)、*Actinobacillus actinomycetemcomitans* ATCC 29523(Aa)、*Eikenella corrodens* 1073(Ec)、*Fusobacterium nucleatum* 1436および364(Fn)、*Bacteroides gingivalis* 381(Bg)および*Bacteroides intermedius* ATCC 33563(Bi)に対するウサギ抗血清は、大阪大学歯学部口腔治療学講座神山章博士より恵与された。この恵与された抗血清は交叉反応を示す細菌種の凍結乾燥菌体を用いて吸収操作を行ったものである。そして、歯肉縁下プラーク中の

特定細菌を神山[21]の記載に従い、間接蛍光抗体法により検出した。その概略は以下の通りである。すなわち、プラーク浮遊液を塗末、火焔固定したスライドガラスにそれぞれの特定細菌に対するウサギ抗血清を1次抗体として滴下し、37℃で1時間インキュベートした後、pH7.2の10mMリン酸塩緩衝生理食塩水(PBS)にて3回洗浄した。ついで、2次抗体として100倍希釈したフルオレッセインイソチオシアネート(FITC)標識ヤギ抗ウサギIgG(Cappel、Malvern、PA)を滴下して反応させた後、グリセロールで封入し、蛍光顕微鏡により1000倍で検鏡した。そして、蛍光物質による細菌の輪郭の明瞭性および形態を判断基準として蛍光陽性細菌数を測定した。また、同一視野を位相差顕微鏡で観察することによってその視野の総菌数を求め、これに対する蛍光陽性細菌数の比率を算出して、特定細菌の検出率とした。

7. GCFの検索

-80℃で凍結保存したGCFを、注射用蒸留水（大塚製薬、東京）で希釈して以下の検索に供した。

1）プロスタグランディンE_2（PGE_2）の定量

GCF中のPGE_2の定量は、Prostaglandin E_2 [^{125}I] RIA Kit（New England Nuclear、Boston、MA.）を用いて行った。すなわち、2000～8000倍に希釈したGCF溶液100μl、^{125}I-PGE_2溶液100μlおよびウサギ抗PGE_2血清100μlを混和し、4℃で20時間インキュベートした。その後、16%ポリエチレングリコールおよび0.05%アゾ化ナトリウムを含むPH6.8の50mMリン酸緩衝液1mlを加え、混和して氷冷下で30分間静置した後、4℃、2000gで30分間遠心し、上清を除去した後、沈澱物のγ線量をCOMPUGAMMA 1282（WALLAC, Turku, Finland）にて測定した。そして、標準PGE_2より求めた検量線よりGCF中のPGE_2濃度を算出した。

2）インターロイキン1α（IL-1α）およびインターロイキン1β（IL-1β）の定量

GCF中のIL-1αおよびIL-1βの定量は、ヒトインターロイキン-1α測定キットおよびヒトインターロイキン-1β測定キット（大塚製薬、東京）を用いてELISA法で行った。すなわち、96穴マイクロプレートに抗ヒトIL-1αまたは抗ヒトIL-1βマウスモノクロナール抗体を固相化し、ブロッキング処理を行った後、IL-1αの定量に際しては1200～4800倍に希釈したGCF溶液50μlを、また、IL-1β定量に際しては200～800倍に希釈したGCF溶液50μlを加えて、それぞれ室温および4℃で一晩インキュベートした。プレート洗浄後、抗ヒトIL-1αまたはIL-1βポリクロナール抗体を加え、室温で2時間インキュベートした。そして、再度洗浄し、ペルオキシダーゼ（POD）標識抗ウサギIgG抗体100μlを加えて室温で2時間インキュベートした後、未反応のPOD標識抗体を洗浄除去し、O-フェニレンジアミン（OPD）酵素基質溶液250μlを加え、室温で15分間インキュベートした。その後、酵素反応停止液（1N

硫酸）を加え反応を停止させ、マイクロプレートリーダー（MTP-32、コロナ電気、茨城）を用いて測定波長492nm、参照波長690nmで吸光度を測定した。そして、GCF中のIL-1濃度をリコンビナントヒトIL-1αまたはIL-1βの吸光度より得られた検量線から算出した。

3）コラゲナーゼ活性の測定

GCF中のコラゲナーゼ活性の測定は、FITC標識コラーゲンを用いたコラゲノキットCLN-100（コラーゲン技術研修会、東京）を用いて行った[22]。

活性型コラゲナーゼ活性の測定は、以下の方法で行った。すなわち、200～800倍に希釈したGCF溶液10μl、10μlの0.1M Tris-HCl緩衝液（PH7.5）および0.1M Tris-HCl緩衝液を蒸留水で2倍希釈した調整液20μlを混和し、35℃で2時間インキュベートした。そして、0.05% FITCコラーゲン溶液100μlを加え混和し、35℃で2時間酵素反応させた後、5μlの80mM O-フェナントロリン溶液を加え反応を停

止させた。ついで、コラゲナーゼにより分解されたコラーゲン分解産物を選択的に変性させるために、35℃で1時間インキュベートした。氷冷後、200μlの抽出液（70%エタノール、Tris-HCl緩衝液NaClを含む）を加え、15秒間激しく攪拌し、4℃、1800gで10分間遠心した。そして、上清100μlをラウンドボトムの96穴マイクロプレート（CORNING、New York、NY.）に入れ、マイクロプレートリーダー（MTP-32およびMTP-F2、コロナ電気）を用いて励起波長（Ex）490nm、測定波長（Em）530nmで蛍光強度（FI）を測定した。そして、酵素活性は、FIに加えて、GCF希釈液の代わりに同量の蒸留水を供試した時の蛍光強度（FI_B）、および35℃で2時間の酵素反応させる代わりに80℃で10分間熱処理して求めた蛍光強度（FI_T）を次式に代入することにより算出した。

コラゲナーゼ活性（unit）＝（$FI-FI_B$／FI_T-FI_B）×コラーゲン量（50μg）÷酵素反応時間

（120分）

なお、この研究で用いたコラゲナーゼの1 unitは、35℃の条件下でコラーゲン1μgを1分間に分解するのに要する酵素量と定めた。

総コラゲナーゼ活性の測定は、永井ら[23]の記載を参考にして、200～800倍のGCF希釈液10μl、10μlの0.1M Tris-HCl緩衝液および20μlの2mM 4－アミノフェニル水銀酢酸塩（和光純薬、大阪）溶液を混和し、35℃で2時間インキュベートして、潜在型コラゲナーゼを活性化した後、活性型コラゲナーゼ活性として測定した。

また、潜在型コラゲナーゼ活性は、総コラゲナーゼ活性と活性型コラゲナーゼ活性の差として求めた。

4）リポ多糖（LPS）の定量

GCF中のLPS量の測定は、トキシカラーテスト（生化学工業、東京）を用いて行った[24]。

すなわち、20000～80000倍に希釈したGCF溶

液を過塩素酸で前処理[25]することによってLimulus反応阻害物質を除去した後、カブトガニ血球抽出液と発色合成基質からなる主剤と反応させた。そして、このジアゾ化反応生成物の吸光度（A_{550}）をマイクロプレートリーダー（MTP-32、コロナ電気）を用いて測定し、標準LPS溶液の段階希釈液を用いて求めた検量線よりGCF中のLPS濃度を算出した。

8. 統計処理

活動部位と休止部位における測定値の比較は、GI、BPおよびPlIの比較はWilcoxonの検定により、また、細菌の検出部位率の比較はχ^2検定により、またその他はt検定を用いて行った。他方、活動部位と休止部位を判別するために、複数の測定値を組み合わせる線形判別分析[26~28]を用いた。

結　果

1.　未治療の歯周病変における活動部位の出現率とポケット深さ（PD）との関係

研究Ⅰの1539部位の被験部位のうち、研究期間（42日間）内に2mm以上のALOSSが生じた活動部位は13部位（被験部位の0.8%）であった。研究Ⅰにおける全被験部位のA1でのPDと活動部位の出現率との関係を表1に示した。PDが3mm以下の部位では、42日間に2mm以上のALOSSは生じなかった。PDが4mm以上の部位では、PDが大きくなるにつれて42日間に2mm以上のALOSSが生じた活動部位の出現率が高くなる傾向が認められた。

2.　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の比較

1）臨床所見

研究Ⅰにおける活動部位と休止部位の臨床所見を表2に示した。

2）歯肉縁下プラーク細菌の検索

総菌数は休止部位に比べ活動部位で有意に

高い値を示した（図３）。

活動部位は休止部位に比べ、歯肉縁下プラーク中のMotile rodsの存在比率が高い値を示す傾向が認められ、逆に、Coccoid cellsの存在比率は有意に低い値を示した。一方、Spirochetesや Othersの存在比率には両部位間で差は認められなかった（図４）。

６種の特定細菌の検出率および検出部位率はいずれも、活動部位と休止部位の間で有意差は認められなかった（表３）。本研究で調べた６種の特定細菌の中では、Bgが活動部位と休止部位のいずれにおいても最も高い検出率を示した。また、検出部位率は、Bg、Biおよび Avが高く、逆にEcおよびAaは低かった。

3）GCFの検索

活動部位は休止部位に比べ、PGE_2濃度が有意に高く（図５）、IL-1α濃度およびIL-1β濃度も高い値を示す傾向が認められた（図６および図７）。また、活動部位は休止部位に比べ、活性型コラゲナーゼ活性が高く、逆に

潜在型コラゲナーゼ活性が低い傾向が認められた（図８）。一方、LPS濃度は、両部位間で有意差は認められなかった（図９）。

３．未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の歯肉縁下プラーク細菌およびGCFの測定値による判別

ある検査により活動部位と休止部位を判別する場合、その判定の基準となる閾値を定める必要がある。しかし、活動部位がその検査で正しく活動部位と判別される確率である感度（sensitivity）と、休止部位がその検査で正しく判別される確率である特異度（specificity）を、同時に大きくするように閾値を設定することはできない。そこで本研究では、各種検査において13部位の休止部位が全て正しく判別される特異度100％を示すように閾値を定め、その時の感度を比較することにより、各種検査の未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の判別能力を評価した（表４）。各種検査の中で最も高い感度を示したのは

PGE_2濃度であったが、その値は31％と低かった。このように、厳密な基準で比較した場合には、本研究で用いた各種検査はいずれも、低い判別能しか示さなかった。

4．未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の線形判別分析による判別

複数の測定値を組み合わせて線形判別分析を行うことにより、未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の判別を試みた。その結果、各種の組合せの中で最も判別能が高かったのは図10に示した7つの測定項目の組合せであった。この7項目の測定値を線形判別分析することにより、活動部位は13部位中8部位が正の判別得点を、休止部位は13部位全てが負の判別得点を示し、62％の感度と100％の特異度で両部位が判別された（図11）。

5．メインテナンス中の歯周病変における活動部位の出現率

研究Ⅱの1035部位の被験部位のうち、研究期間内（6～10ヵ月間、平均7.4ヵ月間）に2ヵ

月毎のリコールの間に2mm以上のALOSSが生じた活動部位は11部位（被験部位の1.1%）であった。

6. メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位の比較

1）臨床所見

メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位の臨床所見を表5に示した。

2）歯肉縁下プラーク細菌の検索結果

活動部位の総菌数は、休止部位に比べ有意に多かった（図12）。

暗視野顕微鏡により分類した歯肉縁下プラーク中のSpirochetes、Motile rods、Coccoid cellsおよびOthersの存在比率は両部位間で有意差は認められなかった（図13）。

6種いずれの特定細菌の検出率および検出部位率も両部位間に有意差は認められなかった（表6）。また、メインテナンス期の歯周病変における特定細菌の検出率および検出部位率は、未治療の歯周病変に比べ活動部位と

休止部位のいずれにおいても、Avを除き低い値を示した（表3および表6）。

3）GCFの検索結果

PGE_2濃度は休止部位に比べ活動部位で高い傾向が認められたが（図14）、IL-1α濃度、IL-1β濃度、コラゲナーゼ活性およびLPS濃度は、両部位の間に有意差は存在しなかった（図15～18）。

7．メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位の歯肉縁下プラーク細菌およびGCFの測定値による判別

研究Ⅰにおいて活動部位と休止部位の各種検査の判別能力を比較する際に採用した特異度100％を研究Ⅱでも用いると、各種検査の感度はいずれも50％以下の値を示し、各検査は活動部位と休止部位の判別方法として十分な判別能を示さなくなってしまう。そこで、この研究Ⅱでは、各種検査において11部位の休止部位のうち9部位が正しく判別される特異度82％を示すように閾値を定め、その時の感

度を比較することにより、各種検査の判別能力を評価した（表７）。

その結果、各種検査の中で総菌数が82％と最も高い感度を示した。また、PGE_2濃度やCoccoid cellsの存在比率も64％と比較的高い感度を示したが、PGE_2濃度以外のGCFに関する各種検査やCoccoid cellsの存在比率以外の暗視野顕微鏡による検査は、いずれも50％以下の感度しか示さなかった。また、６種の特定細菌の検出率および検出部位率は、メインテナンス期における活動部位と休止部位の判別能が極めて低かった。

メインテナンス中の歯周病変の各種検査結果を様々に組み合わせて線形判別分析を行ったが、未治療の歯周病変とは異なり、正診率の上昇は認められなかった。

８．未治療およびメインテナンス中の歯周病変における活動部位の比較

表８に、未治療およびメインテナンス中の歯周病変における活動部位の各種検査結果を

示した。未治療の歯周病変における活動部位はメインテナンス期の活動部位に比べ、PGE_2濃度、IL-1α濃度、IL-1β濃度、総菌数およびMotile rodsの存在比率が有意に高い値を示し、逆に、Coccoid cellsの存在比率が有意に低かった。また、その他の各種測定値もAvの検出率を除き、メインテナンス期の活動部位に比べ、未治療の歯周病変における活動部位において高い値を示す傾向が認められた。

9. 活動部位と休止部位の判別方法の歯周炎の診断への応用

研究Ⅰから導いた未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の線形判別関数に、研究Ⅲの34ヵ所の被験部位の初診時における各種検査値を代入して求めた判別得点（Z）と初期治療効果との関係について検討した。

初期治療効果の評価は、GI、BPおよびPDの初期治療による変動にもとずいて行った。すなわち、GIに関して、初期治療によりGIが減少した場合をGI改善、GIが変化なしまたは増

加した場合をGI非改善とした。同様にBPが減少した場合をBP改善、BPが変化なしまたは増加した場合をBP非改善とした。また、PDに関しては、初期治療によりPDが3mm以上減少した場合をPD改善、PDが1mm以下の減少しか認められなかった場合をPD非改善とした。そして、被験部位を①GI、BP、PDのうち2つ以上が改善しなかった非改善部位、②GI、BP、PDが全て改善した改善部位、③そのいずれにも属さないある程度改善した部位、の3群に分類し、それぞれの群において初診時のZの値が正および負の部位数を調べた（表9）。その結果、初診時にZ>0（研究Iで活動部位と判定された）の部位はZ<0（研究Iで休止部位と判定された）の部位に比べ、初診時における臨床所見には差異が存在しなかった（表10）にもかかわらず、初期治療による臨床症状の改善が認められない場合が多かった（図19）。

他方、メインテナンス中の歯周病変の活動部位と休止部位を最も効率よく判別した総菌

数の値（T: 6.7×10^9）を閾値として、初期治療後の各部位を、その総菌数がT以上の値（研究Ⅱで活動部位と判定された）を示した部位とT以下の値（研究Ⅱで休止部位と判定された）を示した部位とに分類し、両群において初診時にZ>0およびZ<0の部位数を調べた（表11）。その結果、初診時にZ>0の部位はZ<0の部位に比べ、初期治療後において総菌数がT以上の値を示す場合が多かった（図20）。

以上の結果から、歯周病変の2つの異なる進行過程から導き出した活動病変の判別方法はいずれも、その確率の程度は異なるものの、歯周病変の活動度を診断できる可能性が示唆された。

考　察

従来から種々の臨床的パラメーターが歯周炎の診査診断に用いられ、これらのパラメーターにより、病的所見が強いと判定された部位は、病的所見が弱い部位に比べ、ALOSSが生じる頻度が高いことが示されている[6,9~11]。しかし、このような病的所見を評価する臨床的パラメーターが活動部位のスクリーニングに用いられた研究では、その診断感度は低かった[5~7]。事実臨床の場で、臨床所見が類似している部位の間でも、急速に病変が進行する場合とそうでない場合をしばしば経験する。そのため、従来から用いられている臨床的診査では疾病活動部位を十分に検知することは不可能である。そこで、活動部位とその対照部位として活動部位と同程度の臨床所見を示す休止部位とを選択する研究手法が採られており[29~33]、とりわけ本研究では臨床パラメーター以外の細菌学的および生化学的検査を総合して活動部位と休止部位とを比較検討し

た。

本研究では、歯周ポケットの測定誤差は最大でも1.5mmであるというListgarten[34]の報告やHaffajeeら[3]の報告を参考として、未治療の歯周病変では、比較的短期間の変化を検知するのに有効なtolerance method[3]により2mm以上のALOSSが生じた個所を活動部位と判定した。また、メインテナンス中の比較的穏やかな歯周病変では、前回の測定時に比べ2mm以上のALOSSが観察された個所を有意なAL-OSSが生じた活動部位と判定した。

有意なALOSSが生じた活動部位の出現率について、Goodsonら[2]は未治療の歯周炎患者のALを1年間にわたり測定した結果、1155部位の被験部位のうち5.7%の部位にALOSS認められたと報告している。さらに、Haffajeeら[3]は、進行した歯周炎患者の3414部位の被験部位のうち、1年間に2.8～5.1%の部位にALO-SSが認められたと報告している。本研究では、進行した歯周炎患者を未治療のまま42日間モ

ニターした結果、全被験部位の0.8%にALOSSが認められた（表1）。この活動期病変が一定の割合で出現するとして換算すると、1年間に7.3%の割合で活動部位が出現することになる。また、本研究においてメインテナンス中の歯周病変では、同様に1年間に換算すると全被験部位の1.7%の部位に有意なALOSSが生じ、未治療の歯周病変に比べ活動部位の出現率が低いと推測される。これは、未治療の歯周病変ではメインテナンス中のそれに比べ、歯肉縁上および縁下のプラーク細菌量が明らかに多く、しかも一度も歯肉縁下プラークが治療によるコントロールを受けていないので、歯周ポケット内の病原活性が高いためと推測される。

Dunhanら[35]、Goodson[12]およびMandellら[36]は、暗視野顕微鏡検査により疾病活動度を診断することはできなかったと報告している。また、Listgartenら[37]は、3ヵ月毎にメインテナンスリコールを行った患者において、暗

視野顕微鏡検査により歯周炎の再発を予知することはできなかったと報告している。本研究でも、未治療の歯周病変において、活動部位は休止部位に比べCoccoid cellsの存在比率が有意に低く、逆にMotile rodsの存在比率は高い傾向が認められたが（図４）、活動部位と休止部位の判別方法としての暗視野顕微鏡検査の感度は低かった（表４）。暗視野顕微鏡による検査結果は、臨床的パラメーターをもとにした臨床所見と強い相関を示すことが報告[20,38~40]されている。さらに、Motile rodsの比率が歯周組織破壊が起こった後で増加する所見が観察されている[41]ことからも、暗視野顕微鏡により観察される細菌叢の変動は、歯周病変の進行による局所環境の変化に起因する可能性が高いと推測される。

近年、歯周炎の進行や歯周治療に伴う歯肉縁下細菌叢の変動を調べた研究結果から歯周病原性細菌としてグラム陰性嫌気性桿菌が注目されている[42~46]。なかでも、成人性歯周

炎においてはBgが[47~52]、また若年性歯周炎ではAaが関連するという報告[53~56]がなされている。一方、Mooreら[57~59]は、歯肉炎や病型の異なる歯周炎と統計学的な関連性が認められた細菌種は多種類であり、Bgが成人性歯周炎を、Aaが若年性歯周炎を特徴付けるとは結論できなかったと述べている。さらに、Vandesteenら[60]、Okudaら[61]およびLoescheら[62]も、若年性歯周炎におけるAaの検出率はきわめて低かったと報告している。このように、BgやAaが歯周炎の発症や進展に関与する真の病原性細菌であるのか、あるいは歯周炎の進行による歯周ポケットの深化に伴って増殖する細菌種であるのか、現在までのところ意見の一致をみていない[63]。

Slotsら[64]やBragdら[65]は、過去数年間にレントゲン的骨吸収が認められた部位のほとんどで、Aa、BgおよびBiのうち1種以上が存在したと報告している。しかしこれらの研究では、病変が進行した部位において細菌を採

取した時点におけるPDが、進行しなかった部位に比べ明らかに大きな値を示したことや、病変の活動期は2～4ヵ月間の比較的短期間であるとの報告[2]から考えて、採取した細菌が疾病活動期に一致したものであるとは考えにくい。それゆえ、これらの研究手法では特定細菌種の厳密な意味での歯周病原性は評価し得ないと考えられる。そこで、本研究では、観察期間を1～2ヵ月程度の短期間とし、しかも活動部位と同じPDを有し、また可能な限り同歯種の歯でALOSSが生じなかった部位を休止部位として選択することにより、局所環境の影響を可及的に小さくするようにして、活動部位と休止部位の比較を行った。その結果、未治療の歯周病変の活動部位と休止部位の間にBg、BiあるいはAaの検出率と検出部位率に関する有意差は認められなかった（表3）。メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位においても、Bgが一部の活動部位で高い値を示したことを除けば、未治療時

の場合と同様の傾向が認められた（表６）。

Dzinkら[30]は、PDが等しい活動部位と休止部位を比較し、Bi、Aaおよび*Wolinella recta*（Wr）の検出率が活動部位で高かったと報告している。Tannerら[66]も、Wr、*B.gracilis*およびEcが活動部位で高頻度に検出されたと報告している。また、Mandellら[67]は、若年性歯周炎患者において、活動部位でのAaとEcの検出率が休止部位に比べ有意に高かったと報告している。さらに最近のDzinkら[32]の報告では、活動部位でWr、Bi、Bg、Fnおよび*Bacteroides forsythus*（Bf）の検出頻度が高く、逆に休止部位では*Streptococcus mitis*、*Capnocytophaga ochracea*（Cp）、*Streptococcus sanguis*Ⅱ（Ss）、*Veillonella parvula*および*Actinomyces*属の検出頻度が高かった。そして、もしBf、Bg、Aa、WrおよびBiが検出されれば、その部位が活動期病変である可能性が高く、逆にSs、*Actinomyces*属およびCpが検出されればその可能性が低いことを示唆した。このよ

うに、培養法によるSocranskyのグループの研究結果と、間接蛍光抗体法による本研究の結果とは異なっていた。このことは、被験対象とした人種、歯周病変の程度、ポケット内細菌の採取法および検出方法などが異なっていたためと考えられるが、その詳細は現時点では明らかではない。

一方、ペーパーポイントに付着した総菌数は、未治療の歯周病変とメインテナンス中の歯周病変のいずれにおいても、活動部位は休止部位に比べ有意に高い値を示した（図3および図12）。間接蛍光抗体法により検出した6種の特定細菌が活動部位を判別する指標とならなかったことを考慮に入れると、本研究の結果は、歯周炎における病変の進行は検索した6菌種以外の細菌種（あるいは菌群）が深く関わっているか、またはプラークの質的な差異よりもむしろ量的な差異に起因することを暗示しているのかも知れない。

本研究でも示したように活動部位の出現率

は低く、しかも活動部位を事前に予知することが困難なため、ALOSSが生じる部位の歯肉縁下プラークおよびGCFをALOSSが生じる前に前もって採取するためには、膨大な部位から試料採取を行わなければならない。そこで、本研究ではALOSSが生じた直後に試料を採取する方法を採用した。そのため、ALOSSに先行して歯肉縁下細菌叢に変化が生じていた可能性もあり、ALOSSが生じる直前の細菌叢がいかなるものであるかは、現時点では研究遂行上困難な課題ではあるが、本研究で明らかとなったPDと疾病活動度の関係（表1）などを考慮して、将来的に取り組まねばならない課題と考えている。

GCFは歯周病変部局所の炎症状態や生体応答を鋭敏に反映すると考えられており[8,68]、十分量ではないにしても歯周組織に何ら侵襲を加えることなしに何時でも採取できることから、これまでにも歯周炎の病態とGCF中の炎症反応のメディエーターとの関係について調べ

た研究が数多く行われている。

PGE_2は血管透過性の亢進や発熱作用などを有する炎症反応のメディエーターであり、近年PGE_2が骨吸収促進作用を示すことが報告[69~71]されていることからも、歯周炎との関連性が注目されている。Offenbacherらは、歯周炎患者のGCF中のPGE_2濃度は歯肉炎患者に比べて有意に上昇していたこと[72]や、若年性歯周炎患者では成人性歯周炎患者に比べてGCF中のPGE_2濃度が有意に上昇していたことを報告[73]している。また、成人性歯周炎患者を3ヵ月ごとにリコールしてGCF中のPGE_2濃度とALOSSとの関係をモニターした結果、ALOSSの生じた部位は反対側の対照部位に比べ有意にGCF中のPGE_2濃度が高く、歯周治療を行うことによりPGE_2濃度が低下したと報告[74]している。さらに、動物における実験的歯周炎において、PGE_2の強力な合成阻害剤であるflurbiprofenを投与することにより、ALOSSや骨吸収が抑制されることも示した[75~77]。本研究でも、未

治療の歯周病変において、GCF中のPGE$_2$濃度は休止部位に比べ活動部位で有意に高い値を示し（図５）、Offenbacherら[74]の報告と類似した傾向を示した。

IL-1は、炎症反応や免疫応答の調節を担う様々な生物活性を持つサイトカインの１種で、様々な細胞に作用してPGE$_2$やコラゲナーゼの産生を誘導することや骨吸収促進作用を示すことなどが知られている[78]。IL-1αとIL-1βは、アミノ酸レベルでは約20％しか相同性が認められないが、両者に対する生体細胞のレセプターが同一分子であるため[79]、in vitroの系においては両者の生物学的活性に差が認められないという報告が多い。歯周炎においては、歯周炎患者のGCF中に高いIL-1様活性が認められたという報告[80]や、炎症部位のGCF中のIL-1様活性は健常部位よりも高かったという報告[81]がある。また、GCF中のIL-1様活性がPDと相関していたという報告[82]もなされている。本研究では、未治療の歯周病変に

おいて、GCF中のIL-1α濃度とIL-1β濃度は両者とも休止部位に比べ活動部位で高い値を示す傾向が認められた（図6および図7）。

コラゲナーゼは結合組織の主要構成成分であるコラーゲンを生体内において生理的条件下で分解できる唯一の酵素である。そのため、歯周組織におけるコラーゲンの破壊とコラゲナーゼとの関連性を調べた研究が数多く行われている。Villelaら[83,84]は、歯周疾患が進行するにつれてGCF中のコラゲナーゼ活性が上昇したと報告している。近年、コラゲナーゼは生体内では潜在型として存在し、プラスミンその他のプロテアーゼによって活性化されると考えられている[85]。Golubら[86]は、深いポケットを有する部位ほどGCF中の潜在型コラゲナーゼ活性に対する活性型コラゲナーゼ活性の割合が増加する傾向が認められたと報告している。本研究では、未治療の歯周病変において、活動部位は休止部位よりも活性型コラゲナーゼ活性が高く、潜在型コラゲナーゼ

活性が低い傾向が認められた（図８）。この結果は、ビーグル犬の歯頸部にligatureを巻くことによって誘発した実験的歯周炎において、活性型コラゲナーゼ活性とALOSSが強く相関したというKryshtalskyjら[87,88]の報告と類似した傾向を示した。

近年、コラゲナーゼ活性に対するtissue inhibitor of metallo proteinase(TIMP)の役割が注目されている[89~92]。Meikleら[85]は、通常の歯周組織では活性化されたコラゲナーゼはTIMPと結合して不活化され、過度の歯周組織破壊が生じるのを阻止しているが、コラゲナーゼが過剰に産生されTIMPにより不活化できなくなった時に歯周組織破壊が生じるという仮説を提唱している。このように、TIMPを考慮にいれたコラゲナーゼ活性の測定が必要とも考えられるが、本研究のように少量のGCFを用いて多種類の因子を分析する際には、現時点では測定が困難で、今後の課題の一つであろう。

従来からLPSは歯周炎の進行に関与すると考えられているが[93~95]、本研究では未治療の歯周病変とメインテナンス中の歯周病変のいずれにおいても、活動部位と休止部位のGCF中のLPS濃度に有意差は認められなかった（図9および図18）。一方、未治療およびメインテナンス中の歯周病変のいずれにおいても、歯周ポケット内の総菌数が活動部位で有意に多かった（図3および図12）。LPSはグラム陰性菌の細胞壁構成成分であり、本研究ではポケット内のグラム陰性菌の陽性菌に対する比率を測定していないが、一般的には歯周炎のポケット内ではグラム陰性菌が優位を占めていると考えられている。したがって、GCF中のLPS濃度とポケット内の総菌数もある程度相関するとも考えられたが、本研究では相関しなかった。ペーパーポイントに付着した総菌数が歯周ポケット内の細菌の絶対量とある程度相関するのに対して、LPSはGCF中の濃度として表わされているため、GCFにより希釈され必

ずしも歯周ポケット内のLPSの絶対量と相関しないことから、両者が異なった傾向を示したのではないかと推測される。

ある検査により活動部位と休止部位を判別する場合、境界値としての閾値（cut-off point）を定める必要がある。一般に、活動部位が休止部位に比べて高い測定値を示す検査において、閾値を低い値に設定すればするほど、活動部位がその検査で正しく活動部位と診断される確率である感度は大きくなるが、逆に、休止部位がその検査で正しく休止部位と診断される確率である特異度は小さくなる。そのため、どこに閾値を定めても感度と特異度を同時に大きくすることはできない[96]。閾値をどこに設定するかは、対象にする疾患やその検査の性質によって違ってくる。すなわち、悪性腫瘍のような生命にかかわる重篤な疾患の1次的なスクリーニング検査であれば、悪性腫瘍でない人を多少含めてでも悪性腫瘍患者を見逃すことなく完全に検出できるよう

に、特異度を犠牲にしてでも感度が高くなるように閾値を設定すべきである。一方、悪性腫瘍における病理組織検査のような最終的な確定診断に用いる検査では、健全な人を誤って悪性腫瘍と判定することのないように特異度を高く設定することが望ましい。また、慢性で普遍的な疾患であれば、感度が多少低くなっても健常者を誤って罹患者と誤診することが少なくなるように特異度をある程度高くして、誤って判定される確率を最小限にするように閾値を設定し正診率を高くすることが適当と考えられている。歯周炎における検査では、極端に低い特異度を示すように閾値を設定してまで感度を高くする必要はないと考えられる。

前述したように、ある検査により活動部位と休止部位を判別する場合、感度と特異度を同時に大きくすることはできない。そのため、本研究で行った各種検査において、線形判別関数による判別結果と比較する意味も含めて、

特異度が100%を示すように閾値を定め、その時の感度を比較することによって、各種検査による未治療の歯周病変の活動部位と休止部位の判別能を評価した。その結果、各種検査の中で、GCF中のPGE_2濃度が単独では最も高い31%の感度（正診率65%）を示し（表4）、両部位を最もよく判別した。また、結果の項には示さなかったが、特異度を85%に下げた場合の判別能を比較したが、いずれも感度はやや上昇するものの特異度100%の場合とほぼ同様の傾向を示した。

最近、Binderら[31]はGCF中のアルカリフォスファターゼの測定が、またLamsterら[97]はGCF中のβ-グルクロニダーゼの測定が、歯周炎の疾病活動度の診断テストとして有用であると報告しているが、Offenbacherら[74]が報告しているGCF中のPGE_2の測定が、現在のところ単独では疾病活動度の診断テストとして最も有用であると考えられている[8,68]。本研究の結果も、GCF中のPGE_2濃度が疾病活動度の診

断指標として有力であることを示唆しているが、単独では未治療の歯周病変における活動部位と休止部位を十分に判別できなかった。歯周病変部ポケットと健常なポケットから採取した歯肉縁下プラークを暗視野顕微鏡を用いて比較した場合、病変部ではSpirochetesおよびMotile rodsの存在比率が高く、健常部ではCoccoid cellsの存在比率が高いことが報告[20]されている。また、Bgが成人性歯周炎の病変部で多く検出されることが報告[21]されている。GCF中の炎症反応のメディエーターに関しても、歯周炎罹患部は歯肉炎罹患部に比べPGE_2濃度が高いこと[72]、歯周病変部位は健常部位に比べIL-1様活性が高いこと[81]、さらに、コラゲナーゼ活性は歯周病変の進行につれて上昇すること[83,84]などが報告されている。このように、本研究で用いた検査の多くが単独で、臨床所見に明らかな違いのある病変部位と健常部位をある程度識別できることが報告されている。しかしながら、本研究では、

臨床所見が非常に類似した活動部位と休止部位の判別を目的としたため、各種検査は単独では両部位の判別に関して低い判別能しか持たなかったものと推測される。

ある疾患の鑑別に際して、ある事象が認められればそれで鑑別が可能であるというケースは小数例であろう。一般に、臨床医が患者の病気の鑑別を行う場合、その臨床医のもつ文献的知識や過去の臨床経験にもとずき患者の現病歴、既往歴、家族歴、視診、触診および各種臨床検査から得られた結果に、その臨床医独自の重みを付けて、これらを加算して総合的に判断することにより最終的に1つの疾患名に到達する。この臨床医が独自に付与する重みに客観性を持たせて、臨床医が通常行っている鑑別という思考過程をシミュレートした統計方法が線形判別分析法[26~28]である。この方法は、病態を多面的に解析したデーターを総合的に分析するのに適した統計方法で、近年、医学領域でこの方法を疾病の病

態や予後の診断に応用した研究が数多く報告[98~104]されている。しかしながら、歯周炎にこの線形判別分析法を応用した研究報告は、7種類の細菌種の存在比率を用いて活動部位と休止部位の判別を試み、疾病活動度と7種類の細菌種の構成比率との間に関連性がみられたというSocranskyら[29]の学会発表のみである。

本研究では、歯周病変を歯周疾患の原因因子と生体応答の両面から検索するために、細菌学的検査結果とGCFの生化学的検査結果を用いて活動部位と休止部位の判別を線形判別分析法で行った。その結果、GCF中のPGE_2濃度、IL-1α濃度、IL-1β濃度、コラゲナーゼ活性およびLPS濃度の7種の測定値を組み合わせた時に、62%の感度と100%の特異度を示し、81%という最も高い正診率で未治療の歯周病変における活動部位と休止部位が判別された(図10および図11)。線形判別分析法による未治療の歯周病変における活動部位と休止部位

の判別能は、本研究で用いた検査法単独の判別能に比べ明らかに高く、未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の判別法として線形判別分析法が有用であることが示唆された。

メインテナンス中の歯周病変においても線形判別分析法による活動部位と休止部位の判別を試みたが、各種検査法の中で最も高い判別能を示した（表７）総菌数単独の判別能よりも正診率の上昇がみられなかった。一般に、感染症は病原体の起病力が宿主の抵抗力よりも大きくなったときに発症すると考えられ、歯周炎においても歯周病原性細菌の起病力と生体防御あるいは生体応答とのバランスによって病態が異なってくると考えられる。このことから考えると、歯周炎の休止部位ではこの両者が平衡状態にあり、この平衡状態が崩れた時に歯周組織破壊が生じると推測される。本研究で、未治療の歯周病変とメインテナンス期の歯周病変において、同じようにALOSSが

起こった活動部位であるにもかかわらず、その歯肉縁下細菌叢や生体の応答性に明らかな差異が認められ（表８）、活動部位と休止部位の有用な診断法にも違いが認められたことは、両者における歯周組織破壊のメカニズムに違いがあることを示唆しているのかもしれない。

未治療の歯周病変においてポケット深さと活動部位の出現率の関係を検討した結果、PDが３mm以下の部位では研究期間中に２mm以上のALOSSが生じた部位はなく、PDが５mm以上の部位でPDが大きくなるにつれて活動部位の出現率が上昇する傾向が認められた（表１）。このように、未治療の歯周病変においてPDが４mm以下の部位では短期間にALOSSが生じる程の疾病活動性が高い部位がほとんど存在しなかったことから、研究Ⅲでは被験部位をPDが５mm以上で、しかも臨床的観測により疾病活動性が高いと推測された個所を被験部位とした。この被験部位34ヵ所のうち、41％の14部位

で初診時の検査結果の線形判別分析による判別得点が正の値を示した。

研究Ⅲにおける初診時の被験部位は、研究Ⅰの研究対象と同じく未治療の歯周病変である。また、ルートプレーニングを中心とした初期治療の終了した被験部位は、その歯肉縁下細菌叢や炎症状態が研究Ⅱにおけるメインテナンス中の歯周病変と類似していると考えられる。そこで本研究では、研究Ⅰおよび研究Ⅱで未治療およびメインテナンス中の歯周病変において、その活動部位と休止部位を最もよく判別した線形判別関数および総菌数の検査をそれぞれ研究Ⅲの初診時および初期治療後の被験部位に当てはめることにより、本研究で示した歯周病変の活動部位と休止部位の判別方法を歯周炎の診断に応用した。その結果、研究Ⅲにおいて初診時に判別得点（Z）が正の値（研究Ⅰで活動部位と判別された）を示す部位はZが負の値（研究Ⅰで休止部位と判別された）を示した部位に比べ、初期治療

による臨床症状の改善が認められない場合が多かった（表9および図19）。このことは、本研究で示した未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の線形判別関数を用いた判別方法により、歯周病変に対して画一的な治療を施した後に観察される生体の反応性の違いを、初診時においてある程度の確率で予測できる可能性を示唆するものと思われる。

一般に、病気に対する治療を考える場合、病態の診断法が確立し、その診断法により診断された病態に最も効果的な治療を行うことが望ましい。しかし現在、歯周炎の病態を判定できる診断法は開発されていない。そのため、歯周炎では一般に治療診断が行われている。すなわち、現在の歯周治療は全ての病変部に画一的な初期治療を行った後、治療効果の認められない病変部を疾病活性が高い部位と診断してより積極的に治療する方法が一般的である。しかしながら最近、Haffajeeら[105]は、ある種の細菌種あるいは細菌群が治療

に対する病変部の反応性を予測するのに有用であると報告している。本研究でも、未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の判別方法が、臨床所見では評価できない病変部の疾病活動性を予測するのに有用である可能性が示され、これまで初期治療を施した後の再評価時に判断していた疾病活動性を初診時においてある程度の確率で診断できる可能性が示唆された。今後は、疾病活動性の高い部位に対する効果的な治療法の開発が望まれる。また休止期病変部に対しては、これを活動期病変部に移行させないような対処法が将来の合理的な歯周治療となるであろう。

本研究により、歯肉縁下プラークの細菌学的検査とGCFの生化学的検査の結果を総合的に解析することによって、歯周病変の活動部位と休止部位を判別できる可能性が示唆された。今後、倫理的問題も考慮しつつより多数のデーターを臨床の場から得て、本研究で示した方法の有用性を確認するとともに、個々の検

査の有用性についても検討を加えて検査法の取捨選択を行う必要があると考えられる。そして、それらの結果を再び臨床の場にフィードバックさせ改良を加えることにより、さらに診断確率の高い歯周炎の疾病活動度の診断方法が確立できると考えられる。

結　論

未治療およびメインテナンス中の歯周病変のALを経時的に測定することにより、臨床所見は類似しているにもかかわらず、研究期間内に2mm以上のALOSSを示した活動部位とAL-OSSを示さなかった休止部位を選別した。そして、活動部位と休止部位における歯周ポケット内細菌とGCFの各種検査の測定値から、未治療およびメインテナンス中の歯周病変の活動部位と休止部位を判別する方法について検討した。さらに、得られた判別方法を歯周炎の診断に応用してその有用性について検討し、以下の所見を得た。

1. 未治療の歯周病変における活動部位の出現率は、42日間の研究期間内に0.8%であった。また、未治療の歯周病変において、PDが大きな部位ほど活動部位の出現率が高くなる傾向が認められた。

2. 未治療の歯周病変において、活動部位は休止部位に比べ、総菌数およびPGE_2濃度が有

意に高く、Motile rodsの存在比率、IL-1α濃度、IL-1β濃度および活性型コラゲナーゼ活性も高い値を示す傾向が認められた。一方、Coccoid cellsの存在比率は活動部位で有意に低かった。しかしながら、特異度を100%として各々の検査の活動部位と休止部位の判別能を比較すると、本研究で用いた各種検査はいずれも、単独では低い判別能しか示さなかった。そこで、複数の測定値を組み合わせる線形判別分析を用いて未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の判別を試みたところ、PGE_2濃度、IL-1α濃度、IL-1β濃度、コラゲナーゼ活性およびLPS濃度の測定値を組み合わせることにより、62%の感度と100%の特異度で両部位が判別された。

3. 研究IIのメインテナンス中の歯周病変において、活動部位は休止部位に比べ、総菌数が有意に多く、PGE_2濃度も高い値を示す傾向が認められた。そして、各種検査の中で総菌数が82%の感度と82%の特異度でメインテナ

ンス中の歯周病変における活動部位と休止部位を最もよく判別した。しかし、メインテナンス期の歯周病変の各種検査結果を様々に組み合わせて線形判別分析を行ったが、未治療の歯周病変とは異なり、正診率の上昇は認められなかった。

4. 研究Ⅰから導いた未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の線形判別関数に、研究Ⅲの被験部位の初診時における各種検査値を代入して求めた判別得点（Z）と初期治療効果との関係について検討した結果、初診時に$Z>0$（研究Ⅰで活動部位と判定された）の部位は$Z<0$（研究Ⅰで休止部位と判定された）の部位に比べ、初期治療による臨床症状の改善が認められない場合が多かった。

以上の結果より、本研究で示した方法が歯周炎の疾病活動度の診断法として有用である可能性が示唆された。

謝　辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました口腔治療学講座岡田宏教授に心から感謝いたします。また、本研究の遂行にあたり直接御指導頂きました口腔治療学講座恵比須繁之助教授に深く感謝いたします。

さらに、間接蛍光抗体法の実施にあたり貴重な試料と適切な御助言をいただきました口腔治療学講座神山章博士に深謝いたします。

最後に、本研究に対してさまざまなご援助とご協力を戴きました口腔治療学教室員の皆様に厚く御礼申し上げます。

文献

1) Haffajee, A.D., Socransky, S.S. and Goodson, J.M.: Periodontal disease activity. J. Periodont. Res., 17:521-522, 1982.

2) Goodson, J.M., Tanner, A.C.R., Haffajee, A.D., Sornberger, G.C. and Socransky, S.S.: Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 9:472-481, 1982.

3) Haffajee, A.D., Socransky, S.S. and Goodson, J.M.: Comparison of different data analyses for detecting changes in attachment level. J. Clin. Periodontol., 10:298-310, 1983.

4) Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Goodson, J.M. and Lindhe, J.: New concepts of destructive periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 11:21-32, 1984.

5) Haffajee, A.D., Socransky, S.S. and Goodson, J.M.: Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity. J. Clin. Periodontol., 10:257-265, 1983.

6) Badersten, A., Nilvéus, R. and Egelberg, J.: Effect of nonsurgical periodontal therapy. Ⅶ. Bleeding, suppuration and probing depth in sites with probing attachment loss. J. Clin. Periodontol., 12:432-440, 1985.

7) 福原弘喜，木下恵嗣，森田健司，脇田由美子，佐古田茂樹，恵比須繁之：歯周炎の疾病活性に関与する臨床的パラメーターの検討．日歯周誌，28:1110-1119, 1986.

8) Fine, D.H. and Mandel, I.D.: Indicators of periodontal disease activity : an evaluation. J. Clin. Periodontol., 13:533-546, 1986.

9) Lang, N.P., Joss, A., Orsanic, T., Gusberti, F.A. and Siegrist, B.E.: Bleeding on probing - A predictor for the progression of periodontal disease? J. Clin. Periodontol., 13:590-596, 1986.

10) Abbas, F., Van der Velden, U., Hart, A.A.M., Moorer, W.R., Vroom, T.M. and Scholte, G.: Bleeding/plaque ratio and the development of gingival inflammation. J. Clin. Periodontol., 13:774-782, 1986.

11) Halazonetis, T.D., Haffajee, A.D. and Socransky, S.S.: Relationship of clinical parameters to attachment loss in subsets of subjects with destructive periodontal disease. J. Clin. Periodontol.,16:563-568, 1989.

12) Goodson, J.M.: Clinical measurements of periodontitis. J. Clin. Periodontol., 13:446-455, 1986.

13) Ellison, S.A.: Oral bacteria and periodontal disease. J. Dent. Res., 49:198-201, 1970.

14) Keyes, P.H.: Are periodontal pathoses caused by bacterial infections on cervicoradicular surfaces of teeth? J. Dent. Res., 49:223-228, 1970.

15) Socransky, S.S.: Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. J. Dent. Res., 49:203-222, 1970.

16) Kelstrup, J. and Theilade, E.: Microbes and periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 1:15-35, 1974.

17) Listgarten, M.A.: A perspective on periodontal diagnosis. J. Clin. Periodontol., 13:175-181, 1986.

18) Löe, H. and Silness, J.: Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta odont. scand., 21:533-551, 1963.

19) Silness, J. and Löe, H.: Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta odont. scand., 22:121-135, 1964.

20) Listgarten, M.A. and Helldén, L.: Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. J. Clin. Periodontol., 5:115-132, 1978.

21) 神山 章：歯周病の診断に関する細菌学的研究． 日歯周誌，31:360-379，1989.

22) 永井 裕，堀 久枝，服部俊治，砂田泰伸，寺戸国昭，橋田亮一，宮本和代：コラゲナーゼ活性の簡易微量測定法の開発とその応用．partⅠ FITC-標識コラーゲ ンを用いたコラゲナーゼ活性微量測定法． 炎症，4:123-130，1984.

23) 永井 裕，堀 久枝，服部俊治，砂田泰伸，寺戸国昭，橋田亮一，宮本和代：コラゲナーゼ活性の簡易微量測定法の開発とその応用．partⅡ応用：コラゲナーゼ活性 測定のための検体組織および体液の前処理（活性化）． 炎症，4:247-254，1984.

24) 青山悦子，野沢章夫，山田誠一，金沢 司，大和田滋，石田尚志，中村正夫，山本 光祥：エンドトキシンの新しい比色定量法の基礎的検討と透析膜由来のリムルス テスト陽性物質について． 臨床検査，31:321-325，1987.

25) 大林民典，田村弘志，田中重則，山中恒夫，名取 博，柏井明良，河合 忠：血中エンドトキシン測定のための新しい血液前処理法（過塩素酸法）とその臨床的応用． 臨床病理，31:285-288，1983.

26) 柏木 力：医学統計解析，初版，朝倉書店，東京，1979，150-176.

27) 柳井晴夫，高根芳雄：新版多変量解析法，初版，朝倉書店，東京，1977，67-85.

28) 田中 豊，垂水共之，脇本和昌：パソコン統計解析ハンドブック Ⅱ 多変量解析編初版，共立出版，東京，1984，71-94.

29) Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Dzink, J.L., Smith, C. and Sheehan, M.: Discriminant analysis of the microbiota in active and inactive periodontal sites (AADR Abstr. 1534). J. Dent. Res., 63:341, 1984.

30) Dzink, J.L., Tanner, A.C.R., Haffajee, A.D. and Socransky, S.S.: Gram negative species associated with active destructive periodontal lesions. J. Clin. Periodontol., 12:648-659, 1985.

31) Binder, T.A., Goodson, J.M. and Socransky, S.S.: Gingival fluid levels of acid and alkaline phosphatase. J. Periodont. Res., 22:14-19, 1987.

32) Dzink, J.L., Socransky, S.S. and Haffajee, A.D.: The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 15:316-323, 1988.

33) Reinhardt, R.A., McDonald, T.L., Bolton, R.W., DuBois, L.M. and Kaldahl, W.B.: IgG subclasses in gingival crevicular fluid from active versus stable periodontal sites. J. Periodontol., 60:44-50, 1989.

34) Listgarten, M.A.: Periodontal probing: What does it mean? J. Clin. Periodontol., 7:165-176, 1980.

35) Dunhan, S.L., Goodson, J.M., Hogan, P.E. and Socransky, S.S.: Failure of darkfield microbiologic parameters to predict periodontal disease activity at periodontal sites (AADR Abstr. 1657). J. Dent. Res., 64:359, 1985.

36) Mandell, R.L., Ebersole, J.L. and Socransky, S.S.: Clinical immunologic and microbiologic features of active disease sites in juvenile periodontitis. J. Clin. Periodontol., 14:534-540, 1987.

37) Listgarten, M.A., Schifter C.C., Sullivan, P., George, C. and Rosenberg, E.S.: Failure of a microbial assay to reliably predict disease recurrence in a treated periodontitis population receiving regularly scheduled prophylaxes. J. Clin. Periodontol., 13:768-773, 1986.

38) Lindhe, J. Liljenberg, B. and Listgarten, M.: Some microbiological and histopathological features of periodontal disease in man. J. Periodontol. , 51:264-269, 1980.

39) Magnusson, I., Lindhe, J., Yoneyama, T. and Liljenberg, B.: Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets. J. Clin. Periodontol., 11:193-207, 1984.

40) Hakkarainen, K., Asikainen, S. and Ainamo, J.: A 7-month study of sulcular fluid flow in the assessment of healing after debridement of deep pockets. J. Periodontol., 57:14-19, 1986.

41) 奥田一博：歯肉縁下細菌叢の変動および臨床指標の変動から予測される歯周ポケットの深さ．日歯周誌，30:672-699，1988.

42) Slots, J.: Microflora in the healthy gingival sulcus in man. Scand. J. Dent. Res., 85:247-254, 1977.

43) Slots, J.: The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. Scand. J. Dent. Res., 85:114-121, 1977.

44) Slots, J.: The predominant cultivable organisms in juvenile periodontitis. Scand. J. Dent. Res., 84:1-10, 1976.

45) Newman, M.G. and Socransky, S.S.: Predominant cultivable microbiota in periodontotis. J. Periodont. Res., 12:120-128, 1977.

46) Newman, M.G., Socransky, S.S., Savitt, E.D., Propas, D.A. and Crawford, A.: Studies of the microbiology of periodontotis. J. Periodontol., 47:373-379, 1976.

47) Tanner, A.C.R., Haffer, C., Bratthall, G.T., Visconti, R.A. and Socransky, S.S.: A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. J. Clin. Periodontol., 6:278-307, 1979.

48) Mouton, C., Hammond, P.G., Slots, J. and Genco, R.J.: Serum antibodies to oral Bacteroides asaccharolyticus(Bacteroides gingivalis): relationship to age and periodontal disease. Infect. Immun., 31:182-192, 1981.

49) White, D. and Mayrand, D.: Association of oral bacteroides with gingivitis and adult periodontitis. J. Periodont. Res., 16:259-265, 1981.

50) Tanner, A.C.R., Socransky, S.S. and Goodson, J.M.: Microbiota of periodontal pockets losing crestal alveolar bone. J. Periodont. Res., 19:279-291, 1984.

51) Ebersole, J.L., Taubman, M.A., Smith, D.J. and Frey, D.E.: Human immune responses to oral microorganisms: patterns of systemic antibody levels to Bacteroides species. Infect. Immun., 51:507-513, 1986.

52) Okuda, K. and Takazoe, I.: The role of Bacteroides gingivalis in periodontal disease. Adv. Dent. Res., 2:260-268, 1988.

53) Slots, J., Reynolds, H.S. and Genco, R.J.: Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. Infect. Immun., 29:1013-1020, 1980.

54) Listgarten, M.A., Lai, C.-H. and Evian, C.I.: Comparative antibody titers to Actinobacillus actinomycetemcomitans in juvenile periodontitis, chronic periodontitis and periodontally healthy subjects. J. Clin. Periodontol., 8:155-164, 1981.

55) Ebersole, J.L., Taubman, M.A., Smith, D.J., Genco, R.J. and Frey, D.E.: Human immune responses to oral micro-organisms. I. Association of localized juvenile periodontitis(LJP) with serum antibody responses to Actinobacillus actinomycetemcomitans. Clin. exp. Immunol., 47:43-52, 1982.

56) Genco, R.J., Zambon, J.J. and Christersson, L.A.: The origin of periodontal infections. Adv. Dent. Res., 2:245-259, 1988.

57) Moore, W.E.C., Holdeman, L.V., Smibert, R.M., Hash, D.E., Burmeister, J.A. and Ranney, R.R.: Bacteriology of severe periodontitis in young adult humans. Infect. Immun., 38:1137-1148, 1982.

58) Moore, W.E.C., Holdeman, L.V., Cato, E.P., Smibert, R.M., Burmeister, J.A. and Ranney, R.R.: Bacteriology of moderate(chronic) periodontitis in mature adult humans. Infect. Immun., 42:510-515, 1983.

59) Moore, W.E.C., Holdeman, L.V., Cato, E.P., Smibert, R.M., Burmeister, J.A., Palcanis, K.G. and Ranney, R.R.: Comparative bacteriology of juvenile periodontitis. Infect. Immun., 48:507-519, 1985.

60) Vandesteen, G.E., Williams, B.L., Ebersole, J.L., Altman, L.C. and Page, R.C.: Clinical, microbiological and immunological studies of a family with a high prevalence of early-onset periodontitis. J. Periodontol., 55:159-169, 1984.

61) Okuda, K., Naito, Y., Ohta, K., Fukumoto, Y., Kimura, Y., Ishikawa, I., Kinoshita, S. and Takazoe, I.: Bacteriological study of periodontal lesions in two sisters with juvenile periodontitis and their mother. Infect. Immun., 45:118-121, 1984.

62) Loesche, W.J., Syed, S.A., Schmidt, E. and Morrison, E.C.: Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. J. Periodontol., 56:447-456, 1985.

63) Theilade, E.: The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. J. Clin. Periodontol., 13:905-911, 1986.

64) Slots, J., Bragd, L., Wikström, M. and Dahlén, G.: The occurrence of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides gingivalis and Bacteroides intermedius in destructive periodontal disease in adults. J. Clin. Periodontol., 13:570-577, 1986.

65) Bragd, L., Dahlén, G., Wikström, M. and Slots, J.: The capability of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides gingivalis and Bacteroides intermedius to indicate progressive periodontitis; a retrospective study. J. Clin. Periodontol., 14:95-99, 1987.

66) Tanner, A.C.R., Dzink, J.L., Ebersole, J.L. and Socransky, S.S.: Wolinella recta, Campylobacter concisus, Bacteroides gracilis, and Eikenella corrodens from periodontal lesions. J. Periodont. Res., 22:327-330, 1987.

67) Mandell, R.L.: A longitudinal microbiological investigation of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Eikenella corrodens in juvenile periodontitis. Infect. Immun., 45:778-780, 1984.

68) Curtis, M.A., Gillett, I.R., Griffiths, G.S., Maiden, M.F.J., Sterne, J.A.C., Wilson, D.T., Wilton, J.M.A. and Johnson, N.W.: Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases: laboratory markers from analysis of gingival crevicular fluid. J. Clin. Periodontol., 16:1-11, 1989.

69) Klein, D.C. and Raisz, L.G.: Prostaglandins: stimulation of bone resorption in tissue culture. Endocrinology, 86:1436-1440, 1970.

70) Gomes, B.C., Hausmann, E., Weinfeld, N. and De Luca, C.: Prostaglandins: bone resorption stimulating factors released from monkey gingiva. Calcif. Tiss. Res., 19:285-293, 1976.

71) Farr, D., Pochal, W., Brown, M., Shapiro, E., Weinfeld, N. and Dziak, R.: Effects of prostaglandins on rat calvarial bone-cell calcium. Archs. oral Biol., 29:885-891, 1984.

72) Offenbacher, S., Farr, D.H. and Goodson, J.M.: Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. J. Clin. Periodontol., 8:359-367, 1981.

73) Offenbacher, S., Odle, B.M., Gray, R.C. and Van Dyke, T.E.: 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.

74) Offenbacher, S., Odle, B.M. and Van Dyke, T.E.: The use of crevicular fluid prostaglandin E_2 levels as a predictor of periodontal attachment loss. J. Periodont. Res., 21:101-112, 1986.

75) Offenbacher, S., Braswell, L.D., Loos, A.S., Johnson, H.G., Hall, C.M., McClure, H., Orkin, J.L., Strobert, E.A., Green, M.D. and Odle, B.M.: Effects of flurbiprofen on the progression of periodontitis in Macaca mulatta. J. Periodont. Res., 22:473-481, 1987.

76) Offenbacher, S., Odle, B.M., Braswell, L.D., Johnson, H.G., Hall, C.M., McClure, H., Orkin, J.L., Strobert, E.A. and Green, M.D.: Changes in cyclooxygenase metabolities in experimental periodontitis in Macaca mulatta. J. Periodont. Res., 24:63-74, 1989.

77) Williams, R.C., Offenbacher, S., Jeffcoat, M.K., Howell, T.H., Johnson, H.G., Hall, C.M., Wechter, W.J. and Goldhaber, P.: Indomethacin or flurbiprofen treatment of periodontitis in beagles: effect on crevicular fluid arachidonic acid metabolites compared with effect on alveolar bone loss. J. Periodont. Res., 23:134-138, 1988.

78) Oppenheim, J.J., Kovacs, E.J., Matsushima, K. and Durum S.K.: There is more than one interleukin 1. Immunology Today, 7:45-56, 1986.

79) Dower, S.K., Kronheim, S.R., Hopp, T.P., Cantrell, M., Deeley, M., Gillis, S., Henney, C.S. and Urdal, D.L.: The cell surface receptors for interleukin-1α and interleukin-1β are identical. Nature, 324:266-268, 1986.

80) Charon, J.A., Luger, T.A., Mergenhagen, S.E. and Oppenheim, J.J.: Increased thymocyte-activating factor in human gingival fluid during gingival inflammation. Infect. Immun., 38:1190-1195, 1982.

81) Mergenhagen, S.E.: Thymocyte activating factor(s) in human gingival fluids. J. Dent. Res., 63:461-464, 1984.

82) 飯山正夫：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.

83) Villela, B., Cogen, R.B., Bartolucci, A.A. and Birkedal-Hansen, H.: Crevicular fluid collagenase activity in healthy, gingivitis, chronic adult periodontitis and localized juvenile periodontitis patients. J. Periodont. Res., 22:209-211, 1987.

84) Villela, B., Cogen, R.B., Bartolucci, A.A. and Birkedal-Hansen, H.: Collagenolytic activity in crevicular fluid from patients with chronic adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and gingivitis, and from healthy control subjects. J. Periodont. Res., 22:381-389, 1987.

85) Meikle, M.C., Heath, J.K. and Reynolds, J.J.: Advances in understanding cell interactions in tissue resorption. Relevance to the pathogenesis of periodontal diseases and a new hypothesis. J. Oral Pathol., 15:239-250, 1986.

86) Golub, L.M., Wolff, M., Lee, H.M., McNamara, T.F., Ramamurthy, N.S., Zambon, J. and Ciancio, S.: Further evidence that tetracyclines inhibit collagenase activity in human crevicular fluid and from other mammalian sources. J. Periodont. Res., 20:12-23, 1985.

87) Kryshtalskyj, E., Sodek, J. and Ferrier, J.M.: Correlation of collagenolytic enzymes and inhibitors in gingival crevicular fluid with clinical and microscopic changes in experimental periodontitis in the dog. Archs. oral Biol., 31:21-31, 1986.

88) Kryshtalskyj, E. and Sodek, J.: Nature of collagenolytic enzyme and inhibitor activities in crevicular fluid from healthy and inflamed periodontal tissues of beagle dogs. J. Periodont. Res., 22:264-269, 1987.

89) Heath, J.K., Gowen, M., Meikle, M.C. and Reynolds, J.J.: Human gingival tissues in culture synthesize three metalloproteinases and a metalloproteinase inhibitor. J. Periodont. Res., 17:183-190, 1982.

90) Cawston, T.E., Murphy, G., Mercer, E., Galloway, W.A. Hazleman, B.L. and Reynolds, J.J.: The interaction of purified rabbit bone collagenase with purified rabbit bone metalloproteinase inhibitor. Biochem. J., 211:313-318, 1983.

91) Hembry, R.M., Murphy, G. and Reynolds, J.J.: Immunolocalization of tissue inhibitor of metalloproteinases(TIMP) in human cells. characterization and use of a specific antiserum. J. Cell Sci., 73:105-119, 1985.

92) Heath, J.K., Atkinson, S.J., Hembry, R.M., Reynolds, J.J. and Meikle, M.C.: Bacterial antigens induce collagenase and prostaglandin E_2 synthesis in human gingival fibroblasts through a primary effect on circulating mononuclear cells. Infect. Immun., 55:2148-2154, 1987.

93) Daly, C.G., Seymour, G.J. and Kieser, J.B.: Bacterial endotoxin: a role in chronic inflammatory periodontal disease? J. Oral Pathol., 9:1-15, 1980.

94) 浜田茂幸：歯周病原性細菌の内毒素と宿主の相互作用（上）．歯界展望，70:1029-1042, 1987.

95) 浜田茂幸：歯周病原性細菌の内毒素と宿主の相互作用（下）．歯界展望，70:1313-1330, 1987.

96) 丹後俊郎：臨床検査への統計学，初版，朝倉書店，東京，1986, 126-142.

97) Lamster, I.B., Oshrain, R.L., Harper, D.S., Celenti, R.S., Hovliaras, C.A. and Gordon, J.M.: Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patients with chronic adult periodontitis. six month results. J. Periodontol., 59:516-523, 1988.

98) Bernadt, M.W., Mumford, J. and Murray, R.M.: A discriminant-function analysis of screening tests for excessive drinking and alcoholism. J. Stud. Alcohol., 45:81-86, 1984.

99) 高橋 浩，松田信義，井上裕二：血液スペクトルとその一展開．臨床病理，27:399-404，1979.

100) 西岡幹夫，福田敏宏，福本陽平，菅 大三，名和田順介，竹本忠良，宮地隆興：肝細胞性肝癌の臨床病理学的研究．II.判別分析による患者の予後の判定．臨床病理，27:519-522，1979.

101) 松田信義，上田 智：特別発言：血清コリンエステラーゼ測定による病態解．臨床病理，32:376-380，1984.

102) 松田信義，上田 智：病態検査データ解析におけるパーソナルコンピュータの活用． 臨床病理，32:606-612，1984.

103) 木村 聡，岡田正彦，屋形 稔：悪性腫瘍の診断における線形判別関数の有用．臨床病理，36:913-917，1988.

104) 岡田正彦：データベースを活用した正常値の見直しについて． 臨床病理，特77:84-90，1988.

105) Haffajee, A.D., Socransky, S.S., Dzink, J.L., Taubman, M.A. and Ebersole, J.L.: Clinical, microbiological and immunological features of subjects with refractory periodontal diseases. J. Clin. Periodontol., 15:390-398, 1988.

図の説明

図１　研究Ｉの研究スケジュール

時点Ｂの予備診査時に口腔内の全歯の概形印象を行うことにより作製した作業用模型からステントを製作した。Ａ１～Ａ４はアタッチメントレベル(AL)の測定時点を示し、活動部位が認められた場合に試料採取（Ｓ）を行った。

図２　研究IIの研究スケジュール

時点Ｂの再評価時に口腔内の全歯の概形印象を行うことにより作製した作業用模型からステントを製作した。時点Ｍ０～Ｍ８～はアタッチメントレベル(AL)を測定した2ヵ月毎のメインテナンスリコールを示し、前回のリコール時に比べ２mm以上のアタッチメントロス(ALOSS)が測定された場合に試料採取（Ｓ）を行った。

図３　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の総菌数

横線は各群の平均値を示し、＊は休止部位に対して有意差が認められたことを示している（ｔ検定、$P<0.05$）。

図４　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の暗視野顕微鏡検査による比較

歯肉縁下プラーク細菌を暗視野顕微鏡によりSpirochetes（●）、Motile rods（○）、Coccoid cells（▲）およびOthers（△）の４種類に分類し、各々の存在比率（%）を活動部位と休止部位の間で比較した。横線は各群の平均値を示し、＊は休止部位に対して有意差が認められたことを示している（ｔ検定、$P<0.05$）。

図５　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のPGE_2濃度

横線は各群の平均値を示し、＊は休止部位に対して有意差が認められたことを示している（ｔ検定、$P<0.05$）。

図６　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のIL-1α濃度

横線は各群の平均値を示している。

図7　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のIL-1β濃度

横線は各群の平均値を示している。

図8　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のコラゲナーゼ活性

GCF中の活性型コラゲナーゼ活性（●）、総コラゲナーゼ活性（○）および潜在型コラゲナーゼ活性（▲）を活動部位と休止部位の間で比較した。横線は各群の平均値を示している。

図9　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のLPS濃度

横線は各群の平均値を示している。

図10　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の線形判別関数

X_1～X_7の7項目の測定値をもとに導いた線形判別関数を示した。図中に示した各文字は各々

Z　：判別得点
X_1：PGE_2濃度　(pg/μl)
X_2：IL-1α濃度 (pg/μl)
X_3：IL-1β濃度 (pg/μl)
X_4：活性型コラゲナーゼ活性 (10^{-3} unit/μl)
X_5：総コラゲナーゼ活性　(10^{-3} unit/μl)
X_6：潜在型コラゲナーゼ活性 (10^{-3} unit/μl)
X_7：LPS濃度　(ng/μl)
a_1～a_7：係数
a_1：　1.759×10^{-2}
a_2：　-9.120×10^{-3}
a_3：　5.103×10^{-1}
a_4：　2.901
a_5：　−2.898
a_6：　2.892
a_7：　2.662×10^{-2}
c：定数 (-8.810×10^{-1})

を示している。

図11　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の線形判別分析による判別

図10に示した線形判別関数により求めた活動部位と休止部位の判別得点（Ｚ）を示した。このＺが正の値（▒のゾーン）を示せば、図10に示した線形判別関数により活動部位と判定されたことを意味する。

図12　メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位の総菌数

横線は各群の平均値を示し、＊＊は休止部位に対して有意差が認められたことを示している（ｔ検定、$P<0.01$）。

図13　メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位の暗視野顕微鏡検査による比較

歯肉縁下プラーク細菌を暗視野顕微鏡によりSpirochetes（●）、Motile rods（○）、Coccoid cells（▲）およびOthers（△）の４種類に分類し、各々の存在比率（％）を活動部位と休止部位の間で比較した。横線は各群の平均値を示している。

図14　メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のPGE_2濃度

横線は各群の平均値を示している。

図15　メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のIL-1α濃度

横線は各群の平均値を示している。

図16　メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のIL-1β濃度

横線は各群の平均値を示している。

図17　メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のコラゲナーゼ活性

GCF中の活性型コラゲナーゼ活性（●）、総コラゲナーゼ活性（○）および潜在型コラゲナーゼ活性（▲）を活動部位と休止部位の間で比較した。横線は各群の平均値を示している。

図18　メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位のGCF中のLPS濃度

横線は各群の平均値を示している。

図19　研究Ⅲにおける初診時の判別得点（Ｚ）と初期治療効果との関係

Ｚは、研究Ⅰの未治療の歯周病変における活動部位と休止部位を判別する図10に示した線形判別関数に、研究Ⅲの初診時の測定値を代入して求めた判別得点である。研究Ⅲの被験部位を初診時にＺ＞０およびＺ＜０の２群に分類し、両群において初期治療による臨床症状の改善度の違いにより分類した、非改善部位（■）、ある程度改善した部位（▩）および改善部位（□）の部位率（％）を示した。

図20　研究Ⅲにおける初診時の判別得点（Ｚ）と初期治療後の総菌数との関係

Ｚは、研究Ⅰの未治療の歯周病変における活動部位と休止部位を判別する図10に示した線形判別関数に、研究Ⅲの初診時の測定値を代入して求めた判別得点である。Ｔは、研究Ⅱのメインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位を最も効率よく判別した総菌数の値（6.7×10^9）である。研究Ⅲの被験部位を初診時にＺ＞０およびＺ＜０の２群に分類し、両群において初期治療後の総菌数が、Ｔ以上の値を示す部位（■）およびＴ以下の値を示す部位（□）の部位率（％）を示した。

図 1

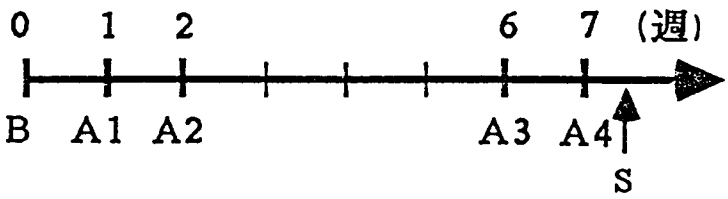

図1　研究Ｉの研究スケジュール

時点Ｂの予備診査時に口腔内の全歯の概形印象を行うことにより作製した作業用模型からステントを製作した。Ａ１～Ａ４はアタッチメントレベル(AL)の測定時点を示し、Ｓは試料採取時点を示している。

図２

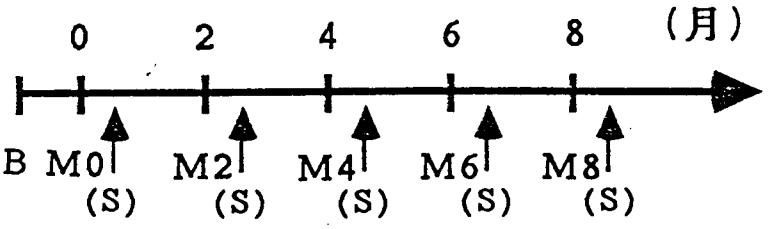

図２　研究Ⅱの研究スケジュール

時点Ｂの再評価時に口腔内の全歯の概形印象を行うことにより作製した作業用模型からステントを製作した。時点Ｍ０～Ｍ８～はアタッチメントレベル(AL)を測定した２ヵ月毎のメインテナンスリコールを示し、前回のリコール時に比べ２mm以上のアタッチメントロス(ALOSS)が測定された場合、試料採取（Ｓ）を行った。

図3

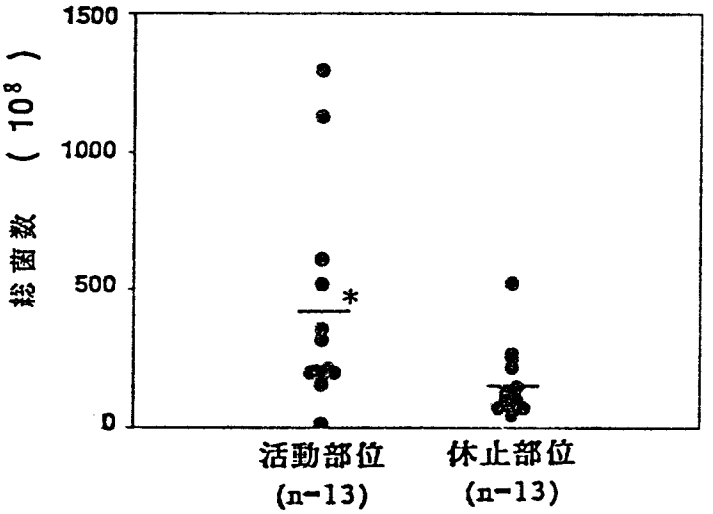

図 4

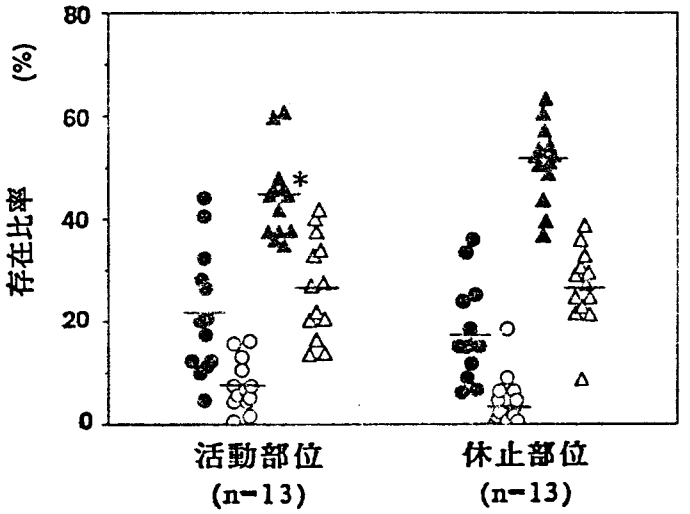

図5

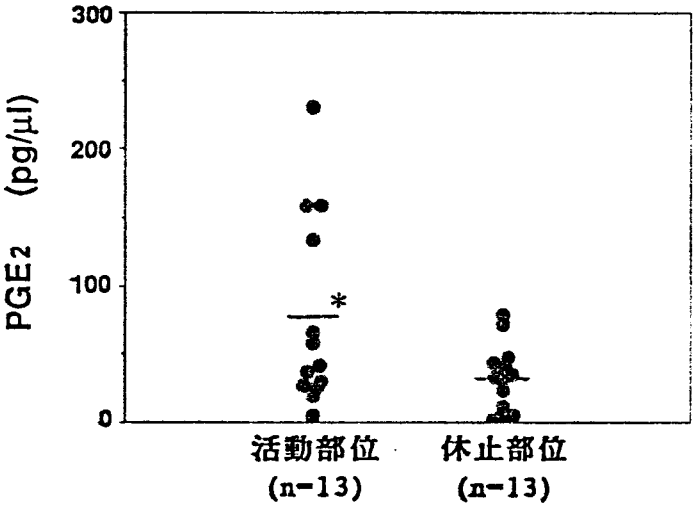

図6

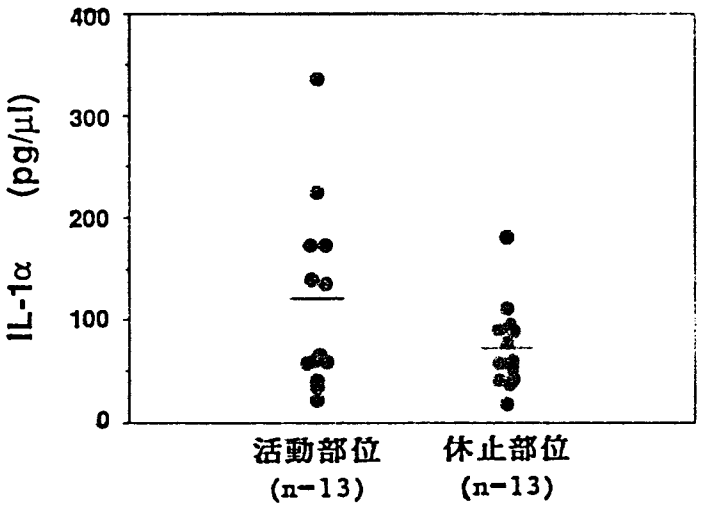

図7

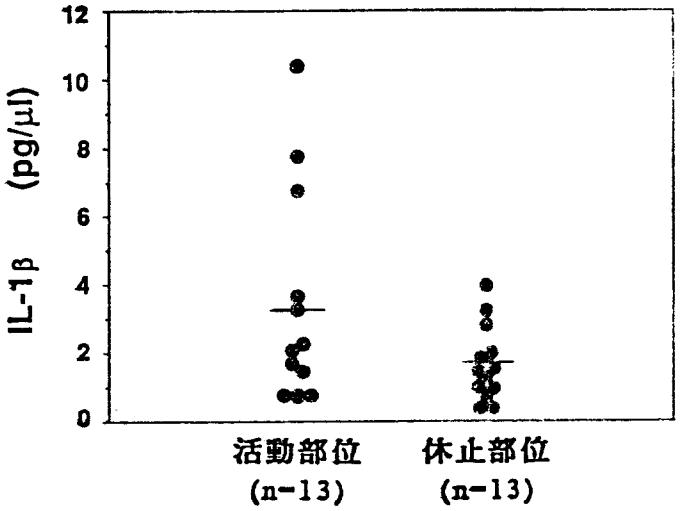

図8

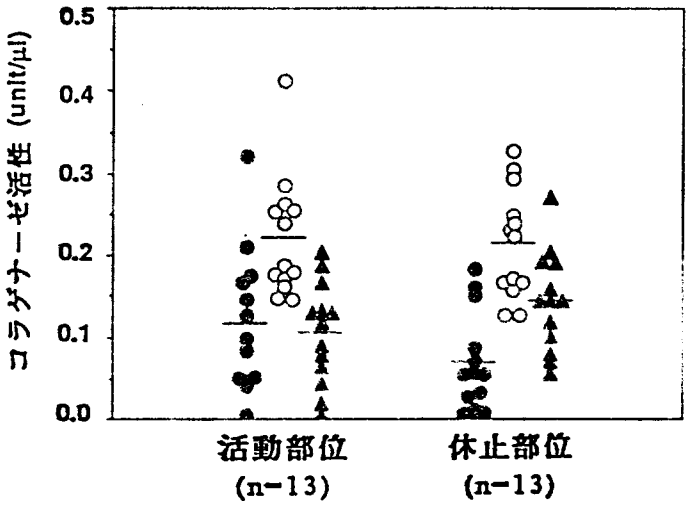

図9

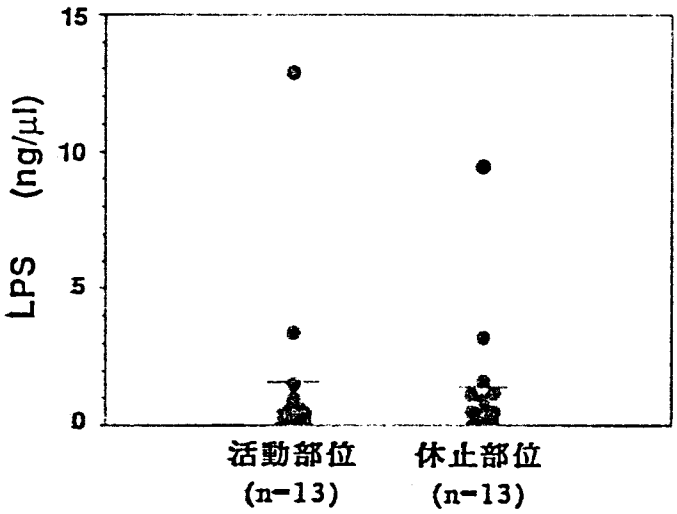

図10

$$Z = a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_4X_4 + a_5X_5 + a_6X_6 + a_7X_7 + c$$

図10　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の線形判別関数

X_1～X_7の７項目の測定値をもとに導いた線形判別関数を示した。図中に示した各文字は各々

Z　：判別得点
X_1：PGE_2濃度　(pg/μl)
X_2：IL-1α濃度 (pg/μl)
X_3：IL-1β濃度 (pg/μl)
X_4：活性型コラゲナーゼ活性 (10^{-3} unit/μl)
X_5：総コラゲナーゼ活性　(10^{-3} unit/μl)
X_6：潜在型コラゲナーゼ活性 (10^{-3} unit/μl)
X_7：LPS濃度　(ng/μl)
a_1～a_7：係数
a_1：　1.759×10^{-2}
a_2：　-9.120×10^{-3}
a_3：　5.103×10^{-1}
a_4：　2.901
a_5：　-2.898
a_6：　2.892
a_7：　2.662×10^{-2}
c：定数 (-8.810×10^{-1})

を示している。

図１１

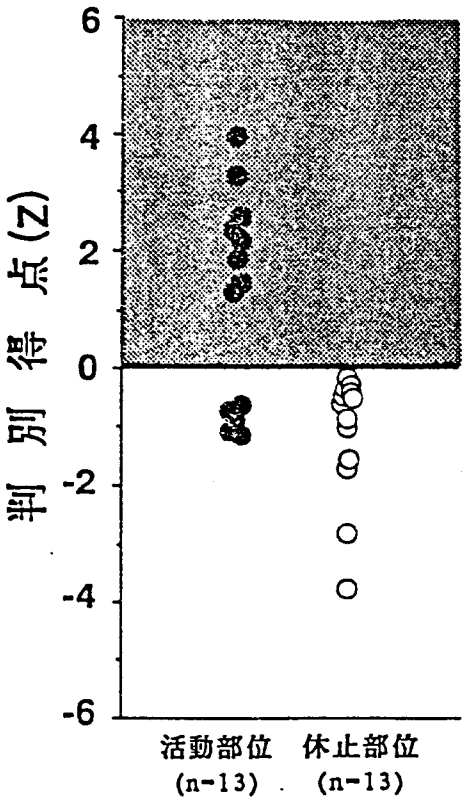

図11　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の線形判別分析による判別

図10に示した線形判別関数により求めた活動部位と休止部位の判別得点（Ｚ）を示した。このＺが正の値（▒のゾーン）を示せば、図10に示した線形判別関数により活動部位と判定されたことを意味する。

図12

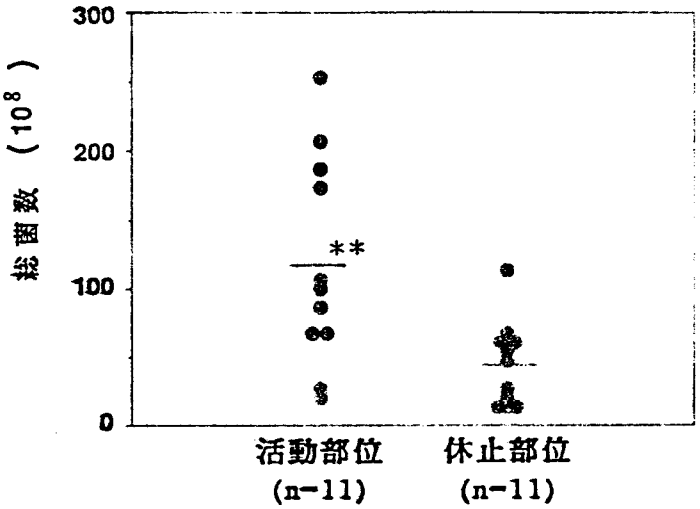

図13

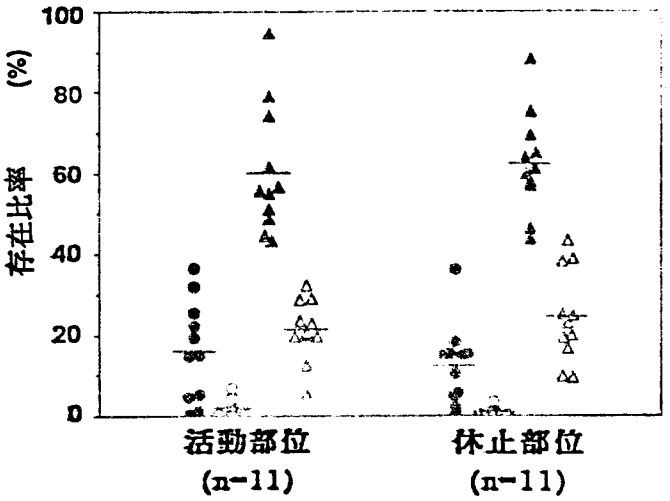

図14

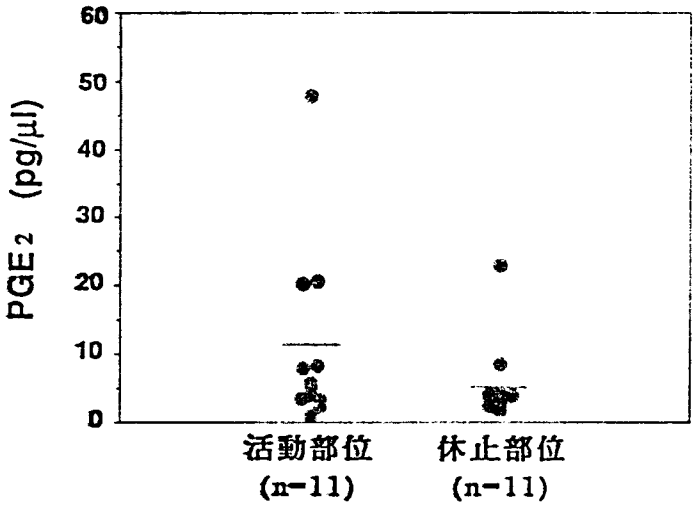

図15

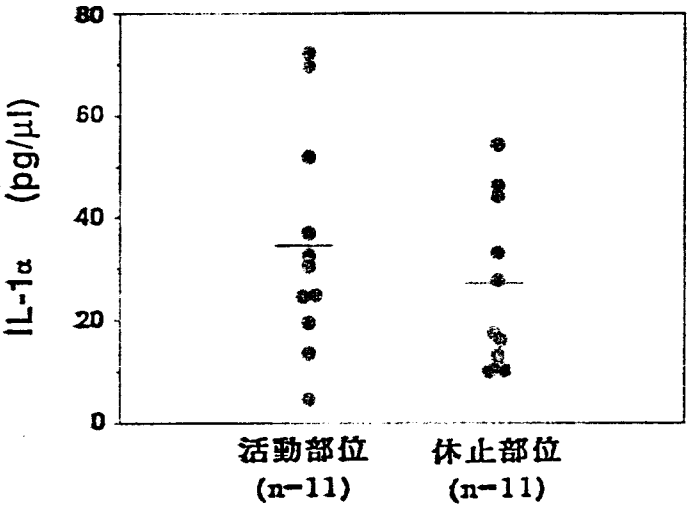

図16

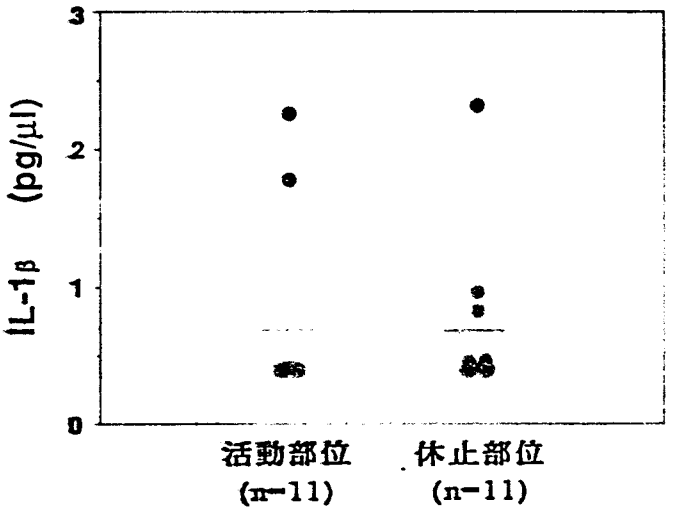

図17

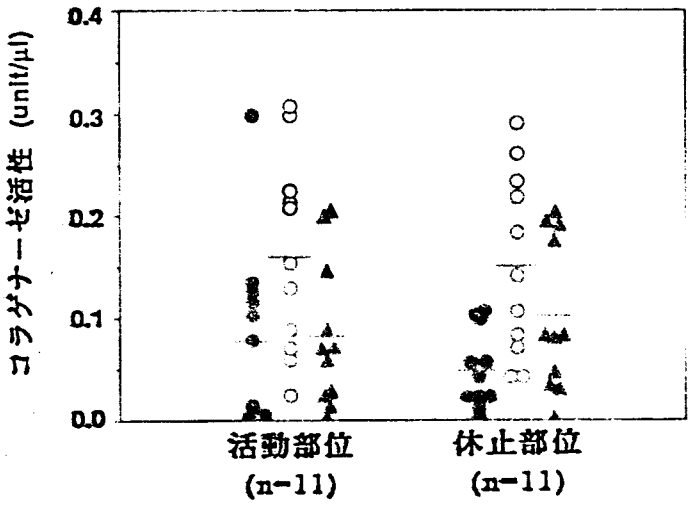

図18

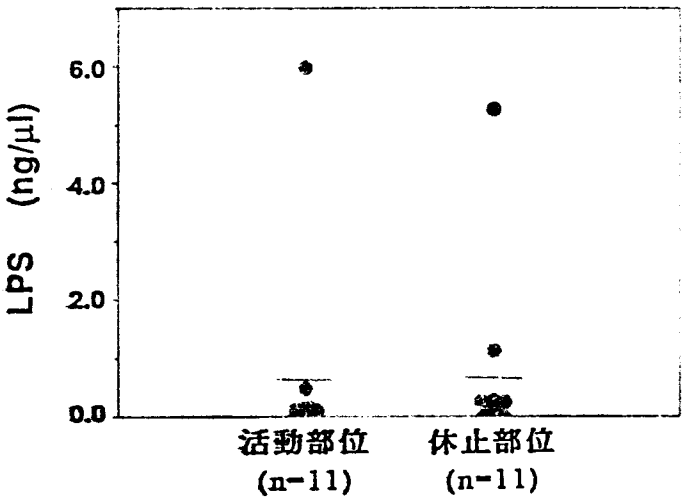

図19

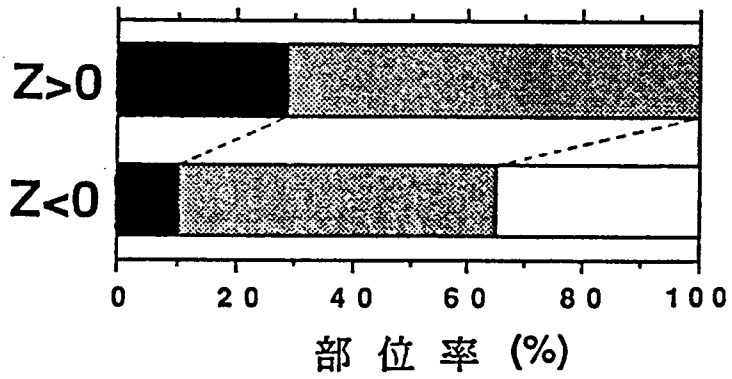

図19　研究Ⅲにおける初診時の判別得点（Ｚ）と初期治療効果との関係

Ｚは、研究Ｉの未治療の歯周病変における活動部位と休止部位を判別する図10に示した線形判別関数に、研究Ⅲの初診時の測定値を代入して求めた判別得点である。研究Ⅲの被験部位を初診時にＺ＞０およびＺ＜０の２群に分類し、両群において初期治療による臨床症状の改善度の違いにより分類した、非改善部位（ ■ ）、ある程度改善した部位（ ▨ ）および改善部位（ □ ）の部位率（％）を示した。

図20

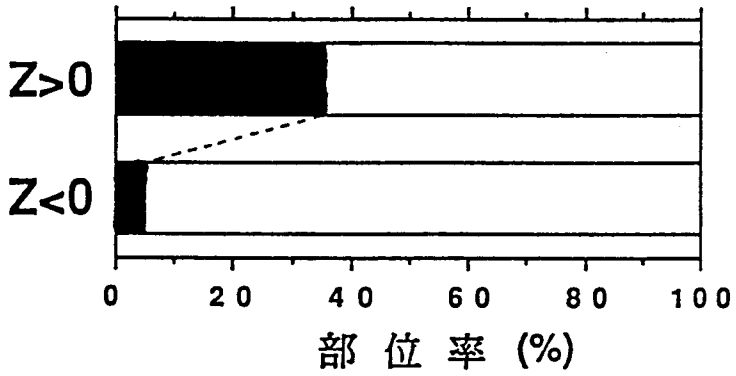

図20　研究Ⅲにおける初診時の判別得点（Ｚ）と初期治療後の総菌数との関係

Ｚは、研究Ｉの未治療の歯周病変における活動部位と休止部位を判別する図10に示した線形判別関数に、研究Ⅲの初診時の測定値を代入して求めた判別得点である。Ｔは、研究Ⅱのメインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位を最も効率よく判別した総菌数の値（6.7×10^9）である。研究Ⅲの被験部位を初診時にＺ＞０およびＺ＜０の２群に分類し、両群において初期治療後の総菌数が、Ｔ以上の値を示す部位（■）およびＴ以下の値を示す部位（□）の部位率（％）を示した。

表１．　未治療の歯周病変におけるポケット深さ(PD)と活動部位の出現との関係

ＰＤ[a]	被験部位数	活動部位数	活動部位の出現率（％）
1	２０３	0	0
2	３０８	0	0
3	４０５	0	0
4	２６０	1	０．４
5	１４０	4	２．９
6	１４６	4	２．７
7	４８	2	４．２
8	１６	1	６．３
9	１１	1	９．１
１０	1	0	0
１１	1	0	0
合計	１５３９	１３	０．８

ａ：初診時のポケット深さ（mm）

表２．　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の臨床所見

	活動部位(n=13)	休止部位(n=13)
ＧＩ	１．８ ± ０．４[a]	１．８ ± ０．４
ＰＤ	６．７ ± １．３	６．５ ± １．１
ＢＰ	１．０ ± ０	１．０ ± ０
ＰｌＩ	１．３ ± ０．６	１．０ ± ０．４

ａ：平均値±標準偏差

表３．　未治療の歯周病変における特定細菌の検出率と検出部位率

	活動部位（n=13）			休止部位（n=13）		
Ａｖ	1.15 ± 0.39[a]	77[b]	(10[c]/13[d])	0.59 ± 0.21[a]	62[b]	(8[c]/13[e])
Ａａ	0.10 ± 0.06	23	(3/13)	0.16 ± 0.10	23	(3/13)
Ｅｃ	0.02 ± 0.02	8	(1/13)	0.06 ± 0.06	8	(1/13)
Ｆｎ	0.70 ± 0.21	69	(9/13)	0.43 ± 0.16	46	(6/13)
Ｂｇ	3.32 ± 0.57	92	(12/13)	3.38 ± 0.77	92	(12/13)
Ｂｉ	0.85 ± 0.24	69	(9/13)	1.03 ± 0.31	69	(9/13)

ａ：検出率、平均値±標準語差(%)
ｂ：検出部位率(%)
ｃ：検出部位数
ｄ：全活動部位数
ｅ：全休止部位数

表４．　未治療の歯周病変における活動部位と休止部位の各種検査による判別

	感度(Sensitivity)	
PGE_2	31[a]	(4[b]／13[c])
IL-1α	15	(2／13)
IL-1β	23	(3／13)
活性型コラゲナーゼ	15	(2／13)
総コラゲナーゼ	8	(1／13)
潜在型コラゲナーゼ	8	(1／13)
LPS	8	(1／13)
総菌数	23	(3／13)
Spirochetes	15	(2／13)
Motile rods	8	(1／13)
Coccoid cells	15	(2／13)
Others	15	(2／13)
Av	15	(2／13)
Aa	8	(1／13)
Ec	8	(1／13)
Fn	8	(1／13)
Bg	8	(1／13)
Bi	8	(1／13)

a：各検査において特異度(Specificity)が100％を示すように閾値を設定した時の感度（％）
b：各検査により活動部位と判定された部位数
c：全活動部位数

表５．　メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位の臨床所見

	活動部位(n=11)	休止部位(n=11)
ＧＩ	１．０ ± ０．２[a]	１．１ ± ０．２
ＰＤ	５．９ ± ０．４	５．９ ± ０．４
ＢＰ	０．８ ± ０．１	０．７ ± ０．１
ＰｌＩ	０．６ ± ０．２	０．６ ± ０．２

ａ：平均値±標準偏差

表6．メインテナンス中の歯周病変における特定細菌の検出率と検出部位率

	活動部位（n=11）			休止部位（n=11）		
Av	1.36 ± 0.43[a]	73[b]	(8[c]/11[d])	1.63 ± 0.54[a]	55[b]	(6[c]/11[e])
Aa	0.02 ± 0.02	9	(1/11)	0.08 ± 0.06	18	(2/11)
Ec	0	0	(0/11)	0.04 ± 0.04	9	(1/11)
Fn	0.38 ± 0.30	18	(2/11)	0.18 ± 0.12	18	(2/11)
Bg	1.63 ± 0.82	46	(5/11)	0.69 ± 0.30	36	(4/11)
Bi	0.69 ± 0.22	64	(7/11)	0.52 ± 0.24	36	(4/11)

a：検出率、平均値±標準語差(%)
b：検出部位率(%)
c：検出部位数
d：全活動部位数
e：全休止部位数

表７．　メインテナンス中の歯周病変における活動部位と休止部位の各種検査による判別

	感度(Sensitivity)	
PGE_2	64[a]	(7[b]／11[c])
IL-1α	27	(3 ／11)
IL-1β	18	(2 ／11)
活性型コラゲナーゼ	46	(5 ／11)
総コラゲナーゼ	18	(2 ／11)
潜在型コラゲナーゼ	18	(2 ／11)
LPS	18	(2 ／11)
総菌数	82	(9 ／11)
Spirochetes	46	(5 ／11)
Motile rods	46	(5 ／11)
Coccoid cells	64	(7 ／11)
Others	18	(2 ／11)

a：各検査において特異度(Specificity)が82%を示すように閾値を設定した時の感度（%）
b：各検査により活動部位と判定された部位数
c：全活動部位数

表８．　未治療およびメインテナンス中の歯周病変における活動部位の比較

	未治療	メインテナンス中
PGE_2 (pg/μl)	76.2 ± 19.5[a]	11.6 ± 4.1**
IL-1α (pg/μl)	117.1 ± 25.4	34.7 ± 6.6**
IL-1β (pg/μl)	3.26 ± 0.86	0.69 ± 0.20*
活性型コラゲナーゼ (unit/μl)	0.12 ± 0.02	0.08 ± 0.03
総コラゲナーゼ (unit/μl)	0.22 ± 0.02	0.16 ± 0.03
潜在型コラゲナーゼ (unit/μl)	0.10 ± 0.02	0.08 ± 0.02
LPS (ng/μl)	1.69 ± 0.97	0.66 ± 0.53
総菌数 ($\times 10^{10}$)	4.16 ± 1.07	1.18 ± 0.23*
Spirochetes (%)	21.5 ± 3.4	16.0 ± 3.7
Motile rods (%)	7.6 ± 1.4	2.3 ± 0.8**
Coccoid cells (%)	44.2 ± 2.3	60.5 ± 4.8**
Others (%)	26.7 ± 2.7	21.2 ± 2.3
Av (%)	1.15 ± 0.39	1.36 ± 0.43
Aa (%)	0.10 ± 0.06	0.02 ± 0.02
Ec (%)	0.02 ± 0.02	0
Fn (%)	0.70 ± 0.21	0.38 ± 0.30
Bg (%)	3.32 ± 0.57	1.63 ± 0.82
Bi (%)	0.85 ± 0.24	0.69 ± 0.22

a：平均値±標準誤差
*, **：未治療の歯周病変における活動部位に対して有意差あり
(*：P<0.05, **：P<0.01, t 検定)

表９．　研究Ⅲにおける初診時の判別得点(Z)と初期治療効果との関係

	初期治療効果			
	非改善部位[a]	ある程度改善した部位[c]	改善部位[b]	合計
Z > 0	4[d]	10	0	14
Z < 0	2	11	7	20

Z：図10に示した研究Ⅰの未治療の歯周病変における活動部位と休止部位を判別する線形判別関数に研究Ⅲの初診時の測定値を代入して求めた判別得点
a：初期治療によりGI、BP、PDの２つ以上が改善しなかった部位
b：初期治療によりGI、BP、PDの全てが改善した部位
c：a、bのどちらにも属さない部位
d：部位数

初診時にZ＞０の部位はZ＜０の部位に比べて、初期治療による臨床症状の改善が認められない場合が多かった（χ^2検定、$P<0.05$）。

表10.　研究Ⅲにおいて、初診時に判別得点(Z)がＺ＞０であった部位とＺ＜０であった部位の初診時における臨床所見

臨床パラメーター	判別得点（Ｚ）	
	Ｚ＞０(n=14)	Ｚ＜０(n=20)
ＧＩ	１．６ ± ０．７[a]	１．８ ± ０．５
ＢＰ	０．７ ± ０．５	０．９ ± ０．３
ＰＤ	６．６ ± １．３	６．３ ± １．３
ＰｌＩ	１．１ ± ０．７	１．３ ± ０．７

Ｚ：図10に示した研究Ｉの未治療の歯周病変における活動部位と休止部位を判別する線形判別関数に研究Ⅲの初診時の測定値を代入して求めた判別得点

ａ：平均値±標準偏差

表11.　研究Ⅲにおける初診時の判別得点(Z)と初期治療後の総菌数との関係

	初期治療後		
	総菌数＞T	総菌数＜T	合計
Z＞0	5[a]	9	14
Z＜0	1	19	20

Z：図10に示した研究Ⅰの未治療の歯周病変における活動部位と休止部位を判別する線形判別関数に研究Ⅲの初診時の測定値を代入して求めた判別得点

T：研究Ⅱのメインテナンス中の歯周病変の活動部位と休止部位を最も効率よく判別した総菌数の値(6.7×10^9)

a：部位数

初診時にZ＞0の部位はZ＜0の部位に比べて、初期治療後にその総菌数がT以上の値を示す場合が多かった（χ^2検定、$P<0.05$）。