

唾液による総合的な口腔検査法の開発

—横断的研究における口腔内の検査結果と多項目唾液検査システム (AL-55) の
検査結果の関連について—

西 永 英 司^{1,4} 牧 利 一^{1,4} 斉 藤 浩 一¹
 深 澤 哲¹ 鈴 木 苗 穂¹ 内 山 千代子^{1,4}
 山 本 高 司² 村 越 倫 明¹ 大 寺 基 靖¹
 福 田 功³ 大久保 章 男³ 富士谷 盛 興⁴
 千 田 彰⁴

¹ライオン株式会社

²公益財団法人ライオン歯科衛生研究所

³アークレイ株式会社

⁴愛知学院大学歯学部保存修復学講座

抄録

目的：唾液による総合的な口腔検査法の確立を目指し、う蝕、歯周病、口腔清潔度に関する 7 項目の唾液因子を 5 分間で測定できる唾液検査システム (AL-55) を開発した。AL-55 は、7 項目の試験片 ([う蝕] う蝕原性菌, pH, 酸緩衝能, [歯周病] 潜血, 白血球, タンパク質, [口腔清潔度] アンモニア) を貼付したストリップ状試験紙の色調変化を反射率として検出する。本研究では、口腔内および AL-55 の検査結果の相関を解析し、AL-55 による検査が、口腔内の状態把握に有用なものであるかについて検討を行った。

方法：成人 231 名の対象者から、洗口吐出液 (蒸留水 3 ml で 10 秒間含嗽した後の吐出液) を採取し、AL-55 の試験紙に 10 μ l ずつ点着後、1 分および 5 分後に反射率を測定した。その後、口腔内検査として、DMFT, PPD, BOP, GI, CPI を評価し、口腔清潔度については洗口吐出液中の総菌数を測定した。口腔内および AL-55 の検査結果の相関について、Spearman 相関解析を用いて評価し ($\alpha=0.01$)、また、対象者を DMFT, PPD, 総菌数によりおのおの 3 層別し、各群における AL-55 の検査結果を、Tukey の多重比較検定を用いて群間比較した ($\alpha=0.05$)。

結果：[う蝕] DMFT は、AL-55 によるう蝕原性菌の検査結果 (反射率) と有意な相関を示したが、pH・酸緩衝能の検査結果との相関は認められなかった。また、対象者の DMFT を 3 層別し、AL-55 による検査結果を比較した結果、う蝕原性菌の検査結果は軽度群と重度群の間に有意差を示したが、pH・酸緩衝能は 3 群間に有意差を認めなかった。[歯周病] PPD, BOP, GI, CPI は、AL-55 による潜血、白血球、タンパク質の検査結果と有意な相関を認めた。また、PPD を基に対象者を 3 層別し、AL-55 の検査結果を比較した結果、潜血は、軽度群・中等度群・重度群のそれぞれの間に有意差を示し、白血球、タンパク質は、軽度群と重度群、および中等度群と重度群の間に有意差を示した。[口腔清潔度] 総菌数は、アンモニアの検査結果と有意な相関を認めた。また、総菌数により対象者を 3 層別し比較した結果、アンモニアは 3 群間にそれぞれ有意差を認めた。

結論：新たに開発した多項目唾液検査システム (AL-55) による検査結果と、口腔内の検査結果に有意な相関を認め、AL-55 が口腔内の状態把握に有用であることが明らかとなった。

キーワード：唾液検査、口腔状態、口腔内検査、臨床の有用性

責任著者連絡先：西永英司

〒130-8644 東京都墨田区本所 1-3-7 ライオン株式会社事業開発部

TEL : 03-3621-6496, FAX : 03-3621-6115, E-mail : e-nishi@lion.co.jp

受付：平成 27 年 3 月 9 日/受理：平成 27 年 4 月 28 日

DOI : 10.11471/shikahozon.58.219

緒 言

近年歯科医療においては、う蝕などの疾患の早期発見・早期治療だけでなく、治療の一環としての積極的な予防も重要と考えられ、定期検診やメンテナンスを中心とした患者教育・管理型の医療への転換が求められている¹⁾。しかし、このような患者管理型の医療の実践においては、患者の健康情報や疾患リスクを正確に把握しなければならない。

簡便かつ非侵襲的に採取可能な唾液は、近年さまざまな疾患の検査試料として注目されており^{2,3)}、歯科医師による口腔内検査において唾液検査による客観性を加えることで、患者の理解向上、さらにリスク予見を含めた診断が可能になることが期待されている。唾液には、口腔内の疾患状況を反映するさまざまな成分が含まれ、う蝕や歯周病等の発症や進行に伴ってそれらが量的あるいは質的に変化することから、唾液中のさまざまなバイオマーカーが研究され⁴⁻⁷⁾、それを用いる検査法が開発されてきた。う蝕に関連するものとして、Resazurin Disc 法によるう蝕活動性迅速判定試験⁸⁻¹¹⁾やミュータンス菌のコロニー識別法^{12,13)}が、また歯周病に関連するものとして、モノクローナル抗体を用いた唾液潜血試験紙による歯周疾患スクリーニングテスト¹⁴⁻¹⁶⁾やリアルタイム PCR 法による歯周病関連菌の定量検査^{17,18)}などが応用されている。しかしながら、これらの検査法はいずれも単項目の検査であり、また操作が煩雑で結果が出るまでに長い時間を必要とする。したがって、臨床でこれらを日常的に採用することは難しい。

著者らは、唾液による総合的な口腔検査法のチェアサイドへの応用を目指し、う蝕・歯周病・口腔の清潔程度（以下、口腔清潔度とする）に関与すると考えられる 7 項目の唾液因子を 5 分間で測定できる多項目唾液検査システムを開発した。この多項目唾液検査システム（以下、AL-55 とする）は、試験紙と測定機器から構成され、7 項目の試験片（[う蝕関連] う蝕原性菌、pH、酸緩衝能、[歯周病関連] 潜血、白血球、タンパク質、[口腔清潔度関連] アンモニア）を貼付した 1 本のストリップ状試験紙に試料を点着し、その色調変化を測定機器により反射率として検出する（Fig. 1）。

AL-55 の 7 項目の試験片の組成は、以下のとおりである。う蝕原性菌は、市販のう蝕検査キットである RD テスト「昭和」（昭和薬品化工）⁸⁻¹¹⁾と類似の組成であり、残る 6 項目は、市販の尿検査試験紙であるオーションステックス¹⁹⁾および血液検査試験紙であるアミチェック（アークレイ）^{20,21)}と類似の組成である。

本研究では、患者教育・管理型歯科医療のための検査

ツールとしての AL-55 の臨床応用にあたって、その有用性の検証を試みた。すなわち、う蝕・歯周病・口腔清潔度に関する一般的な臨床検査結果と、AL-55 で測定した 7 項目の唾液因子の検査結果との相関を解析し、AL-55 による検査が、う蝕・歯周病・口腔清潔度などの口腔内状態の把握に有用なものであるかについて検討を行った。

材料および方法

1. 倫理規定

本研究は、愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認を得て行った（承認番号：236）。

2. 対象者

インターネットを用いた集団募集、および愛知学院大学歯学部附属病院の通院中患者を対象とした院内募集を実施した。これらによって本研究の趣意に賛同し、参加を申し出た協力者に対し、本研究の目的・意義などについて十分に説明を行った。そのうえで、書面による同意を得られた計 277 名の協力者のなかから、除外基準に該当する者（1 カ月以内に抗菌剤・抗生剤を使用した者、薬剤の服用による唾液分泌阻害の可能性のある者、口内炎などの口腔粘膜の異常が認められる者など）を除いた 231 名を最終的に本研究の対象者とした。

3. 検査手順

研究協力者に対し、検査開始 2 時間以上前から飲食および口腔清掃を行わないようあらかじめ要請し、検査直前にはこれらを再度確認し、試料の採取、AL-55 による検査、口腔内の検査の順で実施した。

1) 試料の採取

AL-55 の検査試料は、蒸留水 3 ml を口に含み、10 秒間軽く洗口した後の吐出液（以下、洗口吐出液とする）とし、視診・ポケットのプロービングなどの口腔内検査に先立って採取した。

2) AL-55 による検査

試験紙に貼付された 7 項目の試験片に、採取直後の洗口吐出液を 10 μ l ずつ滴下した後、AL-55 の測定機器の試験紙ホルダーにセットした。1 分後および 5 分後に、試験紙ホルダーがスライドすることで各試験片の呈色変化を反射率（%）として測定した。う蝕原性菌については、1 分後と 5 分後の反射率の変化量（ Δ 反射率）を、その他の 6 項目については 1 分後の反射率を検査結果とした。

3) 口腔内の検査

洗口吐出液の採取後、う蝕・歯周病の病態に関して、DMFT²²⁾、プロービングポケットデプス（PPD）²³⁾、プロービング時の出血（BOP）²⁴⁾、歯肉炎指数（GI）²⁵⁾、Community periodontal index (CPI) ²⁶⁾を評価した。PPD

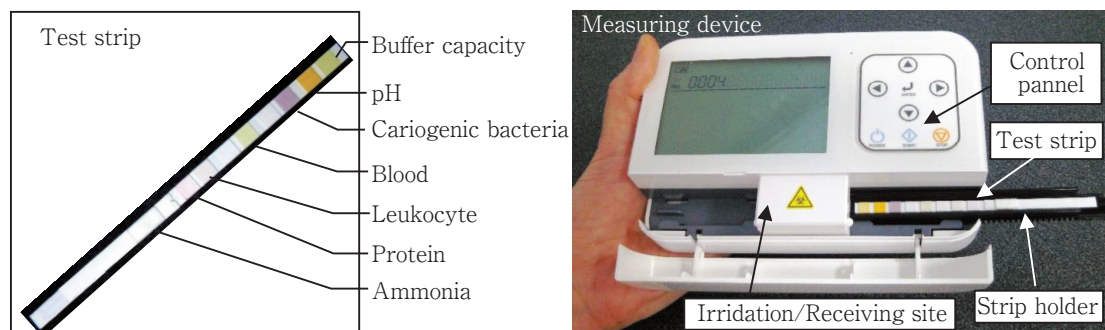


Fig. 1 Test strip and measuring device of AL-55

This system consists of test strips and a measuring device. It detects color changes in each pad of the test strip and measures the reflectance by specified wavelength.

については、1 歯につき 6 点（近心頬側、頬側中央、遠心頬側、近心舌側、舌側中央、遠心舌側）を測定、各歯の最大値を記録し、全歯の平均値を算出した。BOP については、プロービング時の出血を記録し、全プロービング歯面数に対する割合（%）を算出した。GI については、代表 6 歯（#12, #16, #24, #34, #42, #46）において、4 点（頬側、舌側、近心、遠心）のスコアを記録し、その平均値を算出した。CPI については、各 sextant における最大値を代表値とし、その平均値を算出した。これらの測定には、ペリオプローブ WHO（CPITN-C, YMD）を用いた。

口腔内の検査にあたっては、事前に 17 名の歯科医師に対して実施内容を詳細に説明した後、キャリブレーションを実施し、検査者間の測定誤差が可能なかぎり生じないようにした。集団募集した対象者の口腔内検査については、2 名の歯科医師が DMFT および GI を評価し、別の 2 名の歯科医師が PPD, BOP および CPI をおのおのの評価した。また、院内募集した対象者の口腔内検査については、おのおのの担当医である 17 名の歯科医師が各検査項目を評価した。

口腔清潔度については、洗口吐出液中の総菌数を測定し、これをもって評価した。すなわち、洗口吐出液を蒸留水で $10^4 \sim 10^5$ 倍に希釈した試料を血液寒天培地に播種し、 37°C 恒温槽中において 7 日間嫌気培養を行った。培養後、培地に形成されたコロニー数から総菌数（CFU/ml）を算出した。なお、血液寒天培地の組成は以下のとおりである。Todd hewitt broth 30 g/l (Difco, USA), Hemin (Wako) 5 mg/l, Menadione 1 mg/l (Wako), Agar 15 g/l (Wako), ウマ脱線維血液 50 g/l (日本生物材料センター)。

4. 評価方法

得られた口腔内の検査結果から、う蝕・歯周病・口腔清潔度の状態により対象者を軽度・中等度・重度の 3 群に層別した。3 層別の基準は以下のとおりに定義した。

う蝕については、WHO（世界保健機関）の統計分類²⁷⁾に基づき DMFT が 8 本以下を軽度群、9～13 本を中等度群、14 本以上を重度群とした。歯周病については、PPD（全歯の平均値）が 2.5 mm 未満を軽度群、2.5 mm 以上 3.5 mm 未満を中等度群、3.5 mm 以上を重度群とした。口腔清潔度については、総菌数が 10^7 CFU/ml 未満を軽度群、 10^7 CFU/ml 以上 10^8 CFU/ml 未満を中等度群、 10^8 CFU/ml 以上を重度群とした。

5. 統計学的解析

統計学的解析には、JMP 5.0 ソフトウェア（SAS Institute Japan）を用いた。口腔内の検査結果（DMFT, PPD, BOP, GI, CPI, 総菌数）と AL-55 による 7 項目の唾液因子の検査結果との相関について、Spearman の相関係数検定を用いておのおのの検討し、有意水準を $\alpha = 0.01$ とした。また、口腔内の検査結果から、う蝕・歯周病・口腔清潔度に関して対象者を軽度・中等度・重度に 3 層別した際の、各群における AL-55 による検査結果を Tukey の多重比較検定を用いて群間比較し、有意水準を $\alpha = 0.05$ とした。

結 果

1. 対象者の属性

対象者 231 名の属性（年齢、性別、喫煙の有無）を Table 1 に示す。対象者の年齢は 40.3 ± 12.8 歳、性別は男性が 93 名、女性が 138 名であり、喫煙者は 20 名、非喫煙者は 211 名であった。

2. 口腔内および AL-55 の検査結果

口腔内および AL-55 の検査結果を一括して Table 2 に示す。本研究の対象者 231 名の口腔内の検査結果は、DMFT が 12.7 ± 6.8 , PPD（全歯の平均）が 2.9 ± 0.6 mm, BOP が $45.7 \pm 30.5\%$, GI が 1.5 ± 0.4 , CPI が 1.6 ± 0.9 , 総菌数が $7.6 \pm 0.5 \log \text{CFU/ml}$ であった。また、AL-55 の検査結果（反射率, %）は、う蝕原性菌が 2.5 ± 1.0 , pH

Table 1 Age, sex and smoking habit of subjects

Age (average±SD) (minimum-maximum)	40.3±12.8 (20-90)
Sex (male/female)	93/138
Smoking (Yes/No)	20/211

が 33.8 ± 6.8 , 酸緩衝能が 67.7 ± 10.9 , 潜血が 29.8 ± 15.4 , 白血球が 49.2 ± 15.1 , タンパク質が 74.2 ± 7.7 , アンモニアが 11.4 ± 6.6 であった。

3. 口腔内および AL-55 の検査結果の関連性

口腔内の検査結果と AL-55 による 7 項目の唾液因子の検査結果との関連性を, Table 3 に示す。

う蝕に関連する口腔内の検査項目である DMFT は, AL-55 によるう蝕原性菌の検査結果 (反射率) と有意な相関を示したが, pH・酸緩衝能の検査結果との有意な相関は認められなかった。歯周病に関連する口腔内の検査項目である PPD, BOP, GI, CPI は, AL-55 による潜血・白血球・タンパク質の検査結果と有意な相関を認めた。口腔清潔度に関しては, 総菌数がアンモニアの検査結果と有意な相関を認めた。

また, 口腔内の検査結果から, う蝕・歯周病・口腔清潔度の状態により対象者を 3 群に層別し, AL-55 による検査結果を比較した結果を Fig. 2 に示す。

う蝕に関連する検査項目については, 対象者の DMFT を 3 群に層別し, AL-55 による検査結果を比較した結果, う蝕原性菌の検査結果は軽度群と重度群の間に有意差を示したが, pH・酸緩衝能の検査結果は 3 群間に有意差はなかった。歯周病に関連する検査項目については, PPD を基にした軽度群・中等度群・重度群のそれぞれの間において, AL-55 による潜血の検査結果が有意な差を示すとともに, 白血球・タンパク質は, 軽度群と重度群, および中等度群と重度群の間に有意な差を示した。口腔清潔度に関しては, 総菌数を基にした 3 群間において, アンモニアが有意な差を示した。なお, AL-55 の検査項目のうち, 潜血, 白血球, タンパク質, アンモニアは, 測定原理上, 各成分が多いほど試験片の反射率が低く検出される。そのため, Fig. 2 の縦軸に示した反射率は, これら項目の多寡を逆に示している。

考 察

本研究では, 著者らが新たに開発した多項目唾液検査システム (AL-55) の臨床応用にあって, その有用性を検証することを目的に, う蝕・歯周病・口腔清潔度に関する口腔内の検査結果と, AL-55 で測定した 7 項目の唾液因子の検査結果との相関を解析し, 以下の考察を試

みた。

1. 対象者の口腔内の検査結果の分布の妥当性について

今回の研究では, インターネットを用いた集団募集, および愛知学院大学歯学部附属病院の通院中患者を対象とした院内募集を実施した。集団募集では, 外部調査会社である株式会社マクロミルの中京地区のモニター登録者約 6 万人に対し, 残存歯数, 歯のぐらつき, 歯肉からの出血などの口腔内の状況に関する自己評価アンケートを送信し, その回答内容から, 口腔内の疾患程度・属性 (年齢・性別など) が均等になるように考慮したうえで対象者の第一次選定を実施した。さらに, 名古屋市内の会場において説明会を行い, 本研究の趣意を十分に理解できるように, 目的・方法・意義・人権保護への配慮などに関する情報を提供し, 協賛に賛同した 232 名を選定した。また, 愛知学院大学歯学部附属病院歯科保存科の通院中患者を対象に, 主に重度のう蝕あるいは歯周病の病態を有する 45 名を選定した。これら計 277 名の協力者のなかから, 除外基準に該当する者を除いた 231 名を最終的に本研究の対象者とした。その結果, 本研究の対象者 231 名の口腔内の検査結果の分布は, DMFT が 0~28 本, PPD (全歯の平均) が 1.9~5.3 mm, BOP が 0~100%, GI が 0.4~2.4, CPI が 0~4.0 の範囲であり (Table 2), 軽度から重度のう蝕および歯周病のリスクや病態を有する幅広い対象者を得ることができたといえる。また, 口腔清潔度を示す総菌数についても, $10^{6.0} \sim 10^{8.8}$ CFU/ml の範囲であり, 幅広い口腔清潔度を示す対象者を得ることができた。

2. 測定試料 (3 ml 洗口吐出液) について

通常, 唾液検査の試料としては, 安静時唾液あるいはパラフィンガムなどを嚙んで得られる刺激唾液などが用いられる場合が多いが, AL-55 による検査に用いた試料は, 蒸留水 3 ml を口に含み, 10 秒間軽く洗口した後の吐出液 (洗口吐出液) を用いた。現在, 歯周病のための唾液潜血テストキットとして臨床で用いられているペリオスクリーン「サンスター」(サンスター) は, 唾液または洗口吐出液を検体とすることができる¹⁶⁾。本研究においても, 簡便に採取可能な洗口吐出液を試料とした結果, 試料として十分な量が得られ, さらに口腔内で希釈され粘性が比較的低かったため点着操作も容易であった。また, AL-55 の検査結果においても, 幅広い反射率が得られた (Table 2)。これらのことから AL-55 の臨床応用にあたり, 測定試料として唾液そのものではなく, 唾液の希釈された洗口吐出液が十分応用可能であることが明らかとなった。本研究では, 薬剤の服用による唾液分泌阻害の可能性のある者を除外した健常者において洗口吐出液の妥当性を検討したが, 今後, 唾液分泌障害を

Table 2 Test results of oral condition and AL-55

Oral condition	Average $\pm$ SD	minimum-maximum
DMFT	12.7 $\pm$ 6.8	0-28
Probing pocket depth (PPD, mm)	2.9 $\pm$ 0.6	1.9-5.3
Bleeding on probing (BOP, % positive)	45.7 $\pm$ 30.5	0-100
Gingival index (GI)	1.5 $\pm$ 0.4	0.4-2.4
Community periodontal index (CPI)	1.6 $\pm$ 0.9	0.0-4.0
Total number of bacteria (log CFU/ml)	7.6 $\pm$ 0.5	6.0-8.8
AL-55	Reflectance (%)	
	Average $\pm$ SD	minimum-maximum
Cariogenic bacteria	2.5 $\pm$ 1.0	0.5-8.6
pH	33.8 $\pm$ 6.8	20.7-56.5
Buffer capacity	67.7 $\pm$ 10.9	41.0-95.4
Blood	29.8 $\pm$ 15.4	1.9-59.7
Leukocyte	49.2 $\pm$ 15.1	28.5-95.2
Protein	74.2 $\pm$ 7.7	52.0-90.2
Ammonia	11.4 $\pm$ 6.6	4.2-62.8

Table 3 Correlation between oral condition and reflectance measured by AL-55 (Spearman correlation test, $p < 0.01$)

Dental caries			Periodontal disease							Oral cleanliness				
DMFT			Probing pocket depth (PPD)		Bleeding on probing (BOP)		Gingival index (GI)		Community periodontal index (CPI)		Total number of bacteria			
	r _s	p value		r _s	p value	r _s	p value	r _s	p value	r _s	p value		r _s	p value
Cariogenic bacteria	0.25	0.0001	Blood	−0.41	<0.0001	−0.30	<0.0001	−0.33	<0.0001	−0.42	<0.0001			
pH	0.04	0.56	Leukocyte	−0.28	<0.0001	−0.23	0.0005	−0.26	<0.0001	−0.31	<0.0001	Ammonia	−0.61	<0.0001
Buffer capacity	−0.04	0.51	Protein	−0.36	<0.0001	−0.35	<0.0001	−0.35	<0.0001	−0.39	<0.0001			

もつ被験者についてもさらに検討を行う予定である。

3. 口腔内および AL-55 の検査結果の相関性について

う蝕・歯周病・口腔清潔度に関する口腔内の検査結果と、AL-55 で測定した 7 項目の唾液因子の検査結果との相関を解析することにより、AL-55 による検査が、う蝕・歯周病・口腔清潔度などの口腔内状態の把握に有用なものであるかについて考察した。

1) う蝕に関連する検査項目について

AL-55 によるう蝕原性菌の検査結果 (反射率, %) は、DMFT と有意な相関を認め ($p < 0.01$)、さらに、対象者の DMFT を軽度・中等度・重度の 3 群に層別し、各群における AL-55 の検査結果を群間比較した結果、軽度群と重度群の間に有意な差を認めた ($p < 0.05$)。また、AL-55 による pH・酸緩衝能の検査結果は、DMFT との相関

は認められず、対象者を 3 層別し群間比較した結果においても 3 群間に有意差はなかった。本研究で、AL-55 によるう蝕原性菌の検査結果と DMFT に有意な相関が認められたことについては、これまでに数多くの研究において、う蝕原性菌がう蝕発生および進行に関与することが示されている²⁸⁻³⁴⁾。今回の研究においても、これらのことを支持する同様の結果が得られ、AL-55 を用いたう蝕原性菌の検査により、う蝕発生リスクのスクリーニングが可能であることが示唆された。今回用いた AL-55 のう蝕原性菌試験片の反応原理は、*S. mutans* や *Lactobacilli* などを含むグラム陽性菌群による Resazurin の還元能を測定するものである。過去の研究でも、グラム陽性菌群の還元能と *S. mutans* や *Lactobacilli* などのう蝕原性菌数との関連性が示されていることから⁹⁾、今回の研究においてもう蝕発生リスクである DMFT との相関が

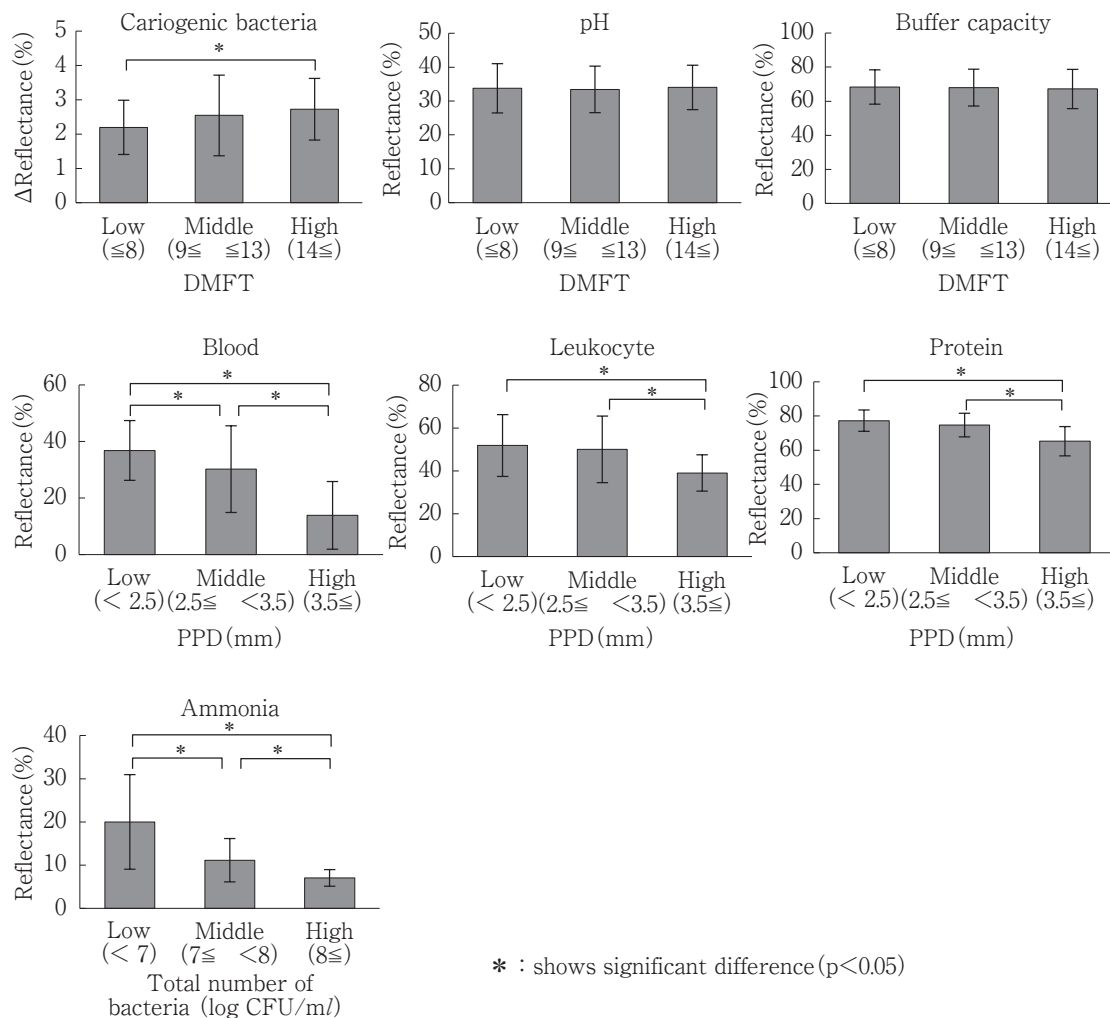


Fig. 2 Stratified analyses between oral condition level and reflectance measured by AL-55 (Tukey's test, $p < 0.05$)

[Dental caries] There was a significant difference in reflectance of cariogenic bacteria between high and low groups stratified by DMFT. In the cases of pH and buffer capacity, no significance was found between three groups. [Periodontal disease] There were significant differences in blood between three groups stratified by PPD, while leukocyte and protein exhibited significant differences between high and middle groups and between high and low groups. [Oral cleanliness] There are significant differences in ammonia between three groups stratified by total number of bacteria.

認められたと考える。また、DMFT と pH・酸緩衝能との相関性が低かったことについて、以下の要因が考えられる。すなわち DMFT はう蝕経験の累積指数であるため、食生活・口腔清掃などの影響を受けた現在のう蝕発生リスクを示すと考えられる。pH・酸緩衝能との間に相関が認められなかったと推測される。しかしながら、pH・酸緩衝能などがう蝕の発生および進行に深く関与していることは既知の事実であり³⁵⁾、これらの検査結果を現在および将来のう蝕発生リスクとして保健指導に用いることで、効果的な予防に繋がると考える。

今後、よりう蝕発生リスクが高い学齢期の児童や、歯

科矯正患者を対象とした縦断的研究による経時推移の比較などを行い、さらに検討を加える予定である。

2) 歯周病に関連する AL-55 の検査項目について

AL-55 による潜血・白血球・タンパク質の検査結果はいずれも、PPD, BOP, GI, CPI と有意な相関を認めた ($p < 0.01$)。さらに対象者を PPD により軽度・中等度・重度に 3 層別し、各群における AL-55 の検査結果を群間比較した結果、潜血の検査結果は PPD を基にした軽度群・中等度群・重度群のそれぞれの間に有意差を認め ($p < 0.05$)、白血球・タンパク質は、軽度群と重度群間、および中等度群と重度群間に有意差を認めた ($p < 0.05$)。

本研究では、歯周病の病態診断において特に重要なものとされている歯周組織破壊の検査項目であるPPD³⁶⁾を用いて群間比較したが、BOP, GI, CPIについても、PPDと同様の検討を試みたところ、有意水準に差はあるものの同様の傾向がみられた。

これまでに、数多くの研究において、唾液中の潜血^{37,38)}、白血球^{38,39)}およびタンパク質^{38,40)}の量と歯周病の病態の相関性が示されているが、今回の研究においてもこれらのことを支持する同様の結果が得られ、AL-55を用いた潜血・白血球・タンパク質の検査により、歯周病態のスクリーニングが可能であることが示唆された。したがって今後、AL-55の歯周病スクリーニング検査としての機能に加えて、病態と唾液検査結果の経時変化の比較によるAL-55の経時モニタリング機能の拡充・検証が必要と考える。

3) 口腔清潔度に関連するAL-55の検査項目について

AL-55によるアンモニアの検査結果は、総菌数と有意な相関を認めた ($p < 0.01$)。さらに対象者を総菌数により軽度・中等度・重度に3層別し、各群におけるAL-55の検査結果を群間比較した結果、軽度群・中等度群・重度群のそれぞれの間に有意な相関を認めた ($p < 0.05$)。これまでに、石川らの報告において洗口吐出液中のアンモニア濃度と総菌数の相関性が示されており^{41,42)}、今回の研究においても、AL-55を用いたアンモニア検査により口腔清潔度を把握することが可能であることが示された。アンモニアは、口腔細菌および日和見細菌などの口腔内に生息する多くの微生物が有するウレアーゼ、グルタミナーゼやメチオニナーゼなどの酵素活性により産生するものと考えられており⁴²⁾、AL-55によるアンモニア測定は、口腔清潔度の評価および把握に有用な検査指標になりうると考えられる。

4. AL-55の臨床的展開

多項目唾液検査システムAL-55は、7項目の唾液因子を5分間で測定可能であるが、本研究によりこれら7項目がう蝕・歯周病・口腔清潔度の検査指標となりうることが判明した。AL-55は、患者の口腔状態を客観的に把握できるだけでなく得られた検査結果が数値として示されるため、治療やセルフケアに対する患者のモチベーション向上にも有用であると考えられる。また、歯科医療者にとっても客観的な検査結果の説明および保健指導が容易となり、AL-55のチェアサイドでのポイントオブケアテストへの応用により、予防やメンテナンスを中心とした患者教育・管理型歯科医療(情報提供型歯科医療)への転換に向けての寄与が期待される。

一方、AL-55を、地域、学校あるいは企業等での歯科健診におけるスクリーニング検査として用いることで、

う蝕や歯周病のリスクを客観的に受診者に伝えることができ、これら集団の健康管理に応用可能であると考えられ、客観値に基づいた歯科受診勧奨により、歯科受診率の向上など、国民のオーラルヘルスプロモーションを行ううえで有用であると思われる⁴³⁾。またAL-55のさらなる応用分野として、介護施設などの入居者に対する口腔のケアや、入院患者の周術期の口腔健康管理にも応用できると考えられ、これらを実践する歯科衛生士・看護師・介護士の施術上の評価に用いることも可能であろう。

今後、AL-55の多項目短時間検査の特長を生かし、歯科医院におけるチェアサイドでの応用にとどまらず、集団健診・介護分野での応用可能性についても、検討を行う予定である。

結 論

本研究では、患者教育・管理型歯科医療のための検査ツールとしてのAL-55の臨床応用にあたって、その有用性を検証した。すなわち、う蝕・歯周病・口腔清潔度に関する口腔内の検査結果と、AL-55で測定した7項目の唾液因子の検査結果との相関を解析し、AL-55による検査が、う蝕・歯周病・口腔清潔度などの臨床状態の把握に有用なものであるかについて検討し、以下の知見を得た。

1. AL-55による検査結果のうち、う蝕関連の検査項目については、う蝕原性菌の検査結果(反射率)が口腔内の検査結果であるDMFTと有意な相関を認め、pH・酸緩衝能の検査結果はDMFTと有意な相関を示さなかった。また、対象者のDMFTを軽度・中等度・重度の3群に層別し、各群におけるAL-55の検査結果を群間比較した結果、う蝕原性菌の検査結果で軽度群と重度群の間に有意な差を認めたが、pH・酸緩衝能の検査結果では群間に有意差はなかった。

2. 歯周病関連の検査項目については、AL-55による潜血・白血球・タンパク質の検査結果(反射率)はともに、PPD, BOP, GI, CPIと有意な相関を認めた。また、対象者をPPDにより軽度・中等度・重度に3層別し、各群におけるAL-55の検査結果を群間比較した結果、潜血は軽度群・中等度群・重度群のそれぞれの間に有意差を認め、白血球・タンパク質は、軽度群と重度群間、および中等度群と重度群間に有意差を認めた。

3. 口腔清潔度関連の検査項目であるアンモニアのAL-55による検査結果(反射率)は、総菌数と有意な相関を認めた。さらに対象者を総菌数により軽度・中等度・重度に3層別し、各群におけるAL-55によるアンモニアの検査結果を群間比較した結果、軽度群・中等度群・重度群のそれぞれの間に有意差を認めた。

以上のことから、AL-55による検査が、う蝕・歯周病・口腔清潔度などの口腔内状態の把握に有用であることが明らかとなった。

本論文の要旨は、日本歯科保存学会2012年度春季学術大会(第136回, 2012年6月29日)において発表した。

文 献

- 1) Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry—a review. FDI Commission Project 1-97. *Int Dent J* 2000; 50: 1-12.
- 2) Zhang Y, Sun J, Lin CC, Abemayor E, Wang MB, Wong DT. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Oral Health Dent Manag* 2014; 13: 200-210.
- 3) Giannobile WV, Wong DT. Salivary diagnostics: oral health and beyond! *J Dent Res* 2011; 90: 1153-1154.
- 4) Klock B, Krasse B. A comparison between different methods for prediction of caries activity. *Scand J Dent Res* 1979; 87: 129-139.
- 5) Vehkalahti M, Nikula-Sarakorpi E, Paunio I. Evaluation of salivary tests and dental status in the prediction of caries increment in caries-susceptible teenagers. *Caries Res* 1996; 30: 22-28.
- 6) Alaluusua S, Kleemola-Kujala E, Grönroos L, Evälahti M. Salivary caries-related tests as predictors of future caries increment in teenagers. A three-year longitudinal study. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 77-81.
- 7) Brinkmann O, Zhang L, Giannobile WV, Wong DT. Salivary biomarkers for periodontal disease diagnostics. *Expert Opin Med Diagn* 2011; 5: 25-35.
- 8) 眞木吉信, 山本秀樹, 松久保 隆, 高江洲義矩, 渋谷陸, 斉藤 斉, 浅見邦明. Resazurin Disc による齲蝕活動性迅速判定法. *口腔衛生会誌* 1982; 32: 403-404.
- 9) 眞木吉信, 山本秀樹, 松久保 隆, 高江洲義矩, 渋谷陸, 木下雄一, 斉藤 斉, 田中文夫, 浅見邦明. 唾液による齲蝕活動性迅速判定法としてのResazurin Discの変色特異性. *口腔衛生会誌* 1983; 33: 169-182.
- 10) 眞木吉信, 山本秀樹, 松久保 隆, 高江洲義矩, 渋谷陸. Resazurin Disc 法による齲蝕活動性迅速判定試験と齲蝕発病の予測性. *口腔衛生会誌* 1984; 34: 208-214.
- 11) 眞木吉信. Resazurin Disc test—唾液による齲蝕活動性迅速判定法. *歯科学報* 1984; 84: 183-185.
- 12) Jensen B, Bratthall D. A new method for the estimation of mutans streptococci in human saliva. *J Dent Res* 1989; 68: 468-471.
- 13) Karjalainen S, Söderling E, Pienihäkkinen K. Validation and inter-examiner agreement of mutans streptococci levels in plaque and saliva of 10-year-old children using simple chair-side tests. *Acta Odontol Scand* 2004; 62: 153-157.
- 14) 大島光宏, 鈴木邦治, 江田昌弘, 佐藤慶伴, 伊藤公一, 村井正大, 大塚吉兵衛. 唾液潜血試験におけるモノクローナル抗体を用いたヘモグロビン検出試験紙の有用性—ペルオキシダーゼ試験紙法との比較—. *日歯周誌* 1997; 39: 273-280.
- 15) 大島光宏, 藤川謙次, 有泉 実, 沈 在明, 鈴木邦治, 吉沼直人, 江田昌弘, 伊藤公一, 村井正大, 大塚吉兵衛. モノクローナル抗体を用いた唾液潜血試験紙の歯周疾患スクリーニングテストにおける有用性—臨床パラメーターとの関連性について—. *日歯周誌* 1998; 40: 111-118.
- 16) 大島光宏, 藤川謙次, 熊谷京一, 出澤政隆, 江澤眞恵, 伊藤公一, 大塚吉兵衛. 新しい唾液潜血試験紙法による歯周疾患のスクリーニングテストの有用性. *日歯周誌* 2001; 43: 416-423.
- 17) ジーシー. 口腔内細菌検査サービス案内書. <http://www.gcoc.jp/assets/pdf/serviceguide.pdf> (2015年3月5日アクセス)
- 18) BML. 歯科検査サービス. <http://www.bml.co.jp/dentallabo/information/inspects01.html> (2015年3月5日アクセス)
- 19) PMDA. オーションスティックス添付文書. http://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ivd/PDF/100639_20800AMZ00108000_A_01_01.pdf (2015年4月16日アクセス)
- 20) Seligson D, Hirahara K. The measurement of ammonia in whole blood, erythrocytes, and plasma. *J Lab Clin Med* 1957; 49: 962-974.
- 21) PMDA. アミチェック添付文書. http://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ivd/PDF/100639_25A2X00001000007_A_01_02.pdf (2015年4月16日アクセス)
- 22) Klein H, Palmer CE, Knustson JW. Studies on dental caries. I. Dental status and dental needs of elementary school children. *Pub Health Rep* 1938; 53: 751-765.
- 23) Nyman S, Lindhe J. Examination of patients with periodontal disease. Lindhe J. *Textbook of Clinical Periodontology*. 2nd ed. Munksgaard: Copenhagen; 1989. 310-322.
- 24) Greenstein G, Caton J, Polson AM. Histologic characteristics associated with bleeding after probing and visual signs of inflammation. *J Periodontol* 1981; 52: 420-425.
- 25) Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533-551.
- 26) Ainamo J, Barmes D, Beagrie G, Cutress T, Martin J, Sardo-Infirri J. Development of the World Health Organization (WHO) Community Periodontal Index of Treatment Needs (CPITN). *Int Dent J* 1982; 32: 281-291.
- 27) Petersen PE. The world health report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century—the approach of the WHO global oral health programme. *Community Dent Oral Epidemiol* 2003; 31 Suppl 1: 3-24.

- 28) Newbrun E, Matsukubo T, Hoover CI, Graves RC, Brown AT, Disney JA, Bohannon HM. Comparison of two screening tests for *Streptococcus mutans* and evaluation of their suitability for mass screenings and private practice. *Community Dent Oral Epidemiol* 1984; 12: 325-331.
- 29) Kingman A, Little W, Gomez I, Heifetz SB, Driscoll WS, Sheats R, Supan P. Salivary levels of *Streptococcus mutans* and lactobacilli and dental caries experiences in a US adolescent population. *Community Dent Oral Epidemiol* 1988; 16: 98-103.
- 30) Klock B, Emilson CG, Lind SO, Gustavsdotter M, Olhede-Westerlund AM. Prediction of caries activity in children with today's low caries incidence. *Community Dent Oral Epidemiol* 1989; 17: 285-288.
- 31) Wilson RF, Ashley FP. Identification of caries risk in schoolchildren: salivary buffering capacity and bacterial counts, sugar intake and caries experience as predictors of 2-year and 3-year caries increment. *Br Dent J* 1989; 166: 99-102.
- 32) Alaluusua S, Kleemola-Kujala E, Gronroos L, Eevalahti M. Salivary caries-related tests as predictors of future caries increment in teenagers. A three-year longitudinal study. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 77-81.
- 33) Russell JI, Macfarlane TW, Aitchison TC, Stephen KW, Burchell CK. Prediction of caries increment in Scottish adolescents. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991; 19: 74-77.
- 34) van Houte J. Microbiological predictors of caries risk. *Adv Dent Res* 1993; 7: 87-96.
- 35) Guo L, Shi W. Salivary biomarkers for caries risk assessment. *J Calif Dent Assoc* 2013; 41: 107-118.
- 36) 日本歯周病学会. 歯周病の検査・診断・治療計画の指針 2008. 1 版. 医歯薬出版: 東京; 2008. 1-5.
- 37) 佐野祥平. 集団検診に唾液潜血反応試験紙を用いた歯肉炎スクリーニングの研究. *口腔衛生会誌* 1990; 40: 305-318.
- 38) 結城健二, 塚崎弘明, 川和忠治, 芝 燁彦, 芝 紀代子. 尿試験紙による唾液 8 成分の同時測定法の構築と残存歯の歯周病の評価. *補綴誌* 2008; 52: 340-349.
- 39) Uitto VJ, Nieminen A, Coil J, Hurttia H, Larjava H. Oral fluid elastase as an indicator of periodontal health. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 30-37.
- 40) Sánchez GA, Miozza V, Delgado A, Busch L. Determination of salivary levels of mucin and amylase in chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res* 2011; 46: 221-227.
- 41) 石川正夫, 山崎洋治, 森田十誉子, 小川洋子, 森嶋清二, 福田 功, 坂本 久, 渋谷耕司, 高田康二, 芝 紀代子. 洗口吐出液中のアンモニア濃度および濁度を指標とした口腔清潔度検査について. *口腔衛生会誌* 2009; 59: 93-100.
- 42) 石川正夫, 山崎洋治, 石川文子, 島田 睦, 田中良子, 森嶋清二, 石井孝典, 高田康二, 渋谷耕司, 坂下玲子, 濱田三作男. 唾液中アンモニアの高齢者における口腔内細菌数評価への応用. *老年歯学* 2011; 25: 367-374.
- 43) Macey R, Glenny A, Walsh T, Tickle M, Worthington H, Ashley J, Brocklehurst P. The efficacy of screening for common dental diseases by hygiene-therapists: a diagnostic test accuracy study. *J Dent Res* 2015; 94: 70S-78S.

Development of Comprehensive Salivary Test System

—Efficiency of a Newly-developed Salivary Multi-test System (AL-55)—

NISHINAGA Eiji^{1,4}, MAKI Riichi^{1,4}, SAITO Koichi¹,
FUKASAWA Tetsu¹, SUZUKI Naho¹, UCHIYAMA Chiyoko^{1,4},
YAMAMOTO Takashi², MURAKOSHI Michiaki¹, ODERA Motoyasu¹,
FUKUTA Isao³, OKUBO Akio³, FUJITANI Morioki⁴
and SENDA Akira⁴

¹Lion Corporation

²The Lion Foundation of Dental Health

³ARKRAY, Inc.

⁴Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

Abstract

Purpose: In order to achieve a comprehensive oral health assessment, a new salivary multi-test system (AL-55) has been developed. This test system can assay seven saliva analytes measuring color changes of the test strip as reflectance: [Dental caries] cariogenic bacteria, pH, buffer capacity, [Periodontal disease] blood, leukocyte, protein, [Oral cleanliness] ammonia. The purpose of this study was to evaluate the clinical efficiency of this system by examining the correlation between oral conditions and reflectance measured by AL-55.

Methods: Oral rinse samples (3 mL-DW, 10 sec rinse) were collected from 231-adults (40.3±12.8 y). Ten μ L of the sample was dropped on each pad of the strip, and the reflectance was measured after 1 and 5 min. After collecting the samples, the oral conditions of the subjects were examined: [Dental caries] DMFT, [Periodontal disease] probing pocket depth (PPD), bleeding on probing (BOP %), gingival index (GI) and Community periodontal index (CPI), [Oral cleanliness] total number of bacteria. The correlation between the oral conditions and the reflectance was assessed with the Spearman correlation test ($p < 0.01$). In addition, the subjects were stratified into 3 groups (high, middle and low) on the basis of DMFT, PPD or total number of bacteria. The reflectance between the groups was compared with Tukey's test ($p < 0.05$).

Results: [Dental caries] DMFT was significantly correlated with reflectance of cariogenic bacteria measured by AL-55, and was not correlated with pH and buffer capacity. There was a significant difference in reflectance of cariogenic bacteria between high and low groups stratified by DMFT. In the cases of pH and buffer capacity, no significance was found between the three groups. [Periodontal disease] PPD, BOP, GI and CPI were significantly correlated with blood, leukocyte and protein measured by AL-55. There were significant differences in blood between the three groups stratified by PPD, while leukocyte and protein exhibited significant differences between high and middle groups and between high and low groups. [Oral cleanliness] The total number of bacteria was significantly correlated with ammonia measured by AL-55. There are significant differences in ammonia between the three groups stratified by the total number of bacteria.

Conclusion: This particular study revealed that the oral conditions associated with dental caries, periodontal disease and oral cleanliness were correlated with the reflectance measured by the newly-developed salivary multi-test system (AL-55). These results may indicate clinical usefulness of this system for assessing oral health.

Key words: salivary multi-test, oral condition, comprehensive oral health assessment, clinical efficiency