

## 鶴見大学大学院歯学研究科博士学位論文

### 内容の要旨および審査の結果の要旨

氏 名（本籍） 小 坂 美 樹（神奈川県）  
博士の専攻分野 博 士（歯 学）  
学 位 記 番 号 甲 第 472 号  
学位授与年月日 平成 29 年 3 月 31 日  
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
研 究 科 専 攻 鶴見大学大学院歯学研究科  
（博士課程）歯学専攻  
学 位 論 文 題 目 Oral infection, Periodontal Disease and Cytokine Production in Adults with Down Syndrome  
（ダウン症者の口腔感染症、歯周病、サイトカインの産生について）  
Medical Research Archives 第 5 巻 第 3 号 1 頁～16 頁掲載 平成 29 年 3 月 1 日発行  
論 文 審 査 委 員 主査 教授 河 原 博  
副査 教授 五 味 一 博 副査 教授 花 田 信 弘

### 内 容 の 要 旨

#### 【緒 言】

ダウン症（DS）者は歯周病を若年期から発症し、進行が早いと言われている。これは、DS 者の免疫異常、口腔衛生の不良、歯周組織の異常、唾液、細菌、染色体異常に起因した活性酸素の異常などが原因として考えられている。DS は 21 番染色体のトリソミーであり、21 番染色体上にアルツハイマー病（AD）に関与していると考えられているアミロイド  $\beta$  ( $A\beta$ ) を産生するアミロイド前駆体タンパクがコードされているため、 $A\beta$  が多く産生され AD を発症するリスクが高いと考えられている。 $A\beta$  は脳に沈着するが、沈着する要因の一つとして、炎症が関係しているという報告がある。我々は DS 者の口腔の炎症について口腔衛生の評価、細菌学的検査、免疫学的検査を行い総合的に検討した。

#### 【材料と方法】

対象は東京小児療育病院に通院している DS（21 トリソミー）の患者 30 名（平均年齢 28.0 歳）と、同院スタッフ 38 名（平均年齢 31.8 歳）で、重篤な疾患や 1 か月以内の抗生剤使用歴のない、歩行可能である非喫煙者とした。DS 群の保護者と、対照群の被検者に研究計画の説明を行ったのち、書面で同意を得た。倫理審査は鶴見大学と東京小児療育病院にて行われ、承認を得た（鶴見大学 1213 号・東京小児療育病院平成 26 年 8 月 5 日）。

既往歴、現病歴、常用薬の有無、歯科検診（年 1 回以上）の有無、1 日の歯磨き回数、ADL（Barthel Index, Vitality Index）を問診票にて調査した。

採血は医科定期健診目的で採血する際に 2 ml 追加して行った。遠心分離（4000 回転 15 分）後、血漿を -50 度のフリーザーで保管した。 $A\beta$  42 濃度測定は株式会社 LSI メディエンスに依頼し、ELISA 法で行った。

口腔内診査は 1 名の歯科医師によって DMF, O'Leary's Plaque control records (PCR), OHI を測定した。ポケット深さは 6 点法で行い、PD, GI, GBI を測定した。唾液採取当日は洗口液の使用を禁止し、食事や歯磨き後 2 時間以上空け、安静時唾液を吸引器で 2 ml 採取した。綿棒を浸漬させう蝕原因菌検査用培地に挿入し、株式会社ビー・エム・エルに輸送し、う蝕原因菌（Mutans Streptococci, Lactobacilli）を培養法にて測定した。残った唾液は遠心分離（4000 回転 15 分）後、上清液を -50 度のフリーザーで保管した。上清液はサイトカイン（IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ）のキットを用いてサンドイッチ ELISA 法で測定した。沈殿した唾液は株式会社ジーシーに輸送し、歯周病原因菌 5 菌種（Porphyromonas gingivalis, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Tannerella forsythia, Treponema denticola, Prevotella intermedia）の DNA 定量をリアルタイム PCR 法にて測定した。唾液採取前に綿棒にて両側頬粘膜を 5 往復ずつ擦過し、Staphylococcus aureus と

Candida の培地に塗抹して 24 ～ 48 時間培養 (37℃) し、コロニー数をカウントした。A $\beta$ 42 濃度、口腔内診査、歯周病原菌、う蝕原因菌、サイトカイン濃度の有意差検定には Student's t-test を用いた。日和見菌の分離頻度の検定は Pearson's chi-square test を用いた。

#### 【結 果】

DS 群の 80% が慢性疾患を有しており、対照群 (15.8%) と比較して有意に多くみられた ( $p < 0.001$ )。歯科定期管理を受けている DS 者 (76.7%) は対照群 (23.7%) よりも有意に多かった ( $p < 0.001$ )。ADL のスコアは DS 群で有意に低かった ( $p < 0.001$ )。DS 群の A $\beta$ 42 濃度の平均 (51.4 pg/ml $\pm$ 9.2) は対照群 (26.5 pg/ml $\pm$ 4.7) と比較して有意に高かった ( $p < 0.001$ )。PCR、OHI、3 mm $\times$ PD、GI、GBI は DS 群で有意に高かった。DMF は DS 群で有意に低かった ( $p < 0.001$ )。歯周病原菌の検出率は、5 菌種すべて両群間に有意差はなかった。総連鎖球菌数中の MS の検出率と Lactobacilli の検出比率は DS 群で有意に高かった ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ )。Candida のコロニー数は対照群 (1.1 $\pm$ 3.7) と比較して DS 群 (35.2 $\pm$ 93.8) で有意に多かった ( $p < 0.001$ )。DS 群の Candida の分離頻度 (73.3%) は対照群 (13.2%) よりも高かった ( $p < 0.001$ )。唾液の TNF- $\alpha$  濃度は両群に有意差はなかったが、IL-6 と IL-8 濃度は対照群と比較して DS 群で有意に高かった ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ )。

#### 【考 察】

DS 者は歯周病が重篤化しやすいといわれているが、本研究においても、口腔内の臨床検査所見は DS 群で高く、両群間に有意差が見られた。DS 群では歯科定期管理を受けていても口腔の炎症を抑制できなかった。DS 者は歯周病菌を多く保有しているという報告も見られるが、本研究においては、対照群と比べて有意な差はなかった。しかし、免疫異常があると言われている DS 者では、他の常在細菌の存在が歯周組織に影響を及ぼして炎症を誘発しているかもしれない。DS 者の歯周病の進行の原因は、歯周病原菌感染症よりもむしろ不十分な口腔清掃と宿主の生体防御能力が低いことが考えられた。血漿 A $\beta$ 42 濃度は DS 群で有意に高かった。高い A $\beta$ 42 濃度は AD のリスク因子であり、AD の進行速度と生存期間に関連するという報告がある。

総レンサ球菌数中の MS の検出率、総レンサ球菌数と Lactobacilli の検出比率は DS 群で高かったが DMF は DS 群が対照群よりも低かった。この結果は、DS 者はう蝕が少ないという過去の研究と一致した。DS 群で定期検診受診率が高いことが、DS 群のう蝕予防に関係しているかもしれない。DS 群の C. albicans コロニー数は対照群よりも 33 倍多かった。この原因は DS 者の先天的な免疫異常に起因していると考えられる。C. albicans は AD 者の脳内から分離されたという報告があり AD のリスクになりうる。さらに C. albicans は呼吸器感染症原因菌でもあり、口腔ケアは全身のカンジダ症を予防するために重要である。C. albicans の検出は DS 者の免疫異常評価に有用な指標となりうると思える。

唾液 IL-6 と IL-8 濃度は DS 群で高かった。IL-6 は破骨細胞の分化を誘導して歯槽骨を吸収し、IL-8 は好中球の走化性因子として歯周組織の炎症で増加する。そのため、DS 群の歯周組織の炎症のために IL-6 と IL-8 濃度が高かったことが考えられる。

#### 【結 論】

本研究から、歯周病の臨床検査所見は DS 群でいずれも高く、口腔内の炎症を示す検査所見のうち IL-6 と IL-8 が高く、Candida の検出率も DS 群で高かった。これは歯周病原菌の感染よりもむしろ、DS 者の免疫異常などの先天的な要因とともに不十分な口腔清掃が原因になっていることが考えられた。DS 者、介護者、歯科医師、歯科衛生士の口腔ケア教育は、DS 者の口腔内環境を整え、生活の質も向上する可能性がある。

#### 審査の結果の要旨

21 番染色体上にはアルツハイマー病 (AD) の発症に関与するアミロイド  $\beta$  (A $\beta$ ) を産生するアミロイド前駆体タンパクがコードされている。そのため、21 番染色体トリソミーであるダウン症 (DS) 者は、AD を発症するリスクが高いと考えられている。また、DS 者は、歯周病を若年期から発症しその進行が早いとの報告があり、その原因として、免疫異常、歯周組織の異常、口腔衛生状態の不良、染色体異常に起因した活性酸素の異常などが考えられている。さらに、慢性炎症が、脳に A $\beta$  が沈着する要因の一つとする報告もある。本研究は、DS 群 30 名と対照群 38 名の口腔衛生状態の評価、細菌学的検査、免疫学的検査を行い、DS 者の AD 発症リスクとの関連を検討している。

その結果、血中 A $\beta$ 42 濃度、PCR、OHI、GI、GBI が DS 群で高く、歯周病原菌の検出率は対象とした 5 菌種すべてで両群間に有意差はなかったことを認めている。また、Candida albicans の分離頻度が DS 群で約 30 倍高いこと、唾液中

IL-6, IL-8 濃度は DS 群で高く,  $\text{TNF-}\alpha$  は両群間に有意差のないことも認めている.

以上, 本研究は, DS 者では, 免疫異常などの先天的な要因とともに, 不十分な口腔清掃が原因と考えられる口腔内の炎症を示す臨床所見がみられること, また, DS 者では, 血中  $\text{A}\beta$  濃度が高く, 口腔の炎症の存在は AD 発症のリスクになる可能性を示唆した. さらに, 唾液中 IL-6, IL-8 は DS 者の口腔内の異常所見を表す指標となり得ることを示唆した.

本研究は, DS 者の QOL の向上に寄与する臨床的価値のある研究と考えられた.

よって, 本論文は博士(歯学)の学位請求論文としての価値を有するものと判定した.