

若年者における歯周疾患の細菌学的検索

八重柏 隆 梁川輝行 熊谷敦史
佐藤仁哉 上野和之 本田寿子*
金子 克*

岩手医科大学歯学部歯科保存学第2講座

(主任: 上野和之教授)

岩手医科大学歯学部口腔微生物学講座*

(主任: 金子 克教授)

[受付: 1991年2月15日]

Abstract : We studied the occurrence of *Capnocytophaga spp.* and *Haemophilus actinomycetemcomitans* in periodontal pockets using selective medium. The subjects examined in this study consisted of 148 students (75 junior high school students and 73 high school students). They were divided into four groups by clinical examination: simple gingivitis (SG) group, proliferative gingivitis (PG) group, adult periodontitis (AP) and juvenile periodontitis (JP) group and control group. *Capnocytophaga ochracea* could be isolated almost equally from both healthy and affected sites. However, the occurrence of *Haemophilus actinomycetemcomitans* varied significantly among the groups by Chi-square test. In the PG group and AP and JP group, no statistically significant age- and sex-differences were found in the microbe-positive rates.

It was concluded that *Haemophilus actinomycetemcomitans* occurred frequently at periodontal diseased sites in junior high school students and high school students.

key words : juvenile periodontitis, *Capnocytophaga spp.*, *Haemophilus actinomycetemcomitans*

緒 言

若年性歯周炎は明確に定義づけられた疾患ではないが¹⁾, 一般には歯槽骨の進行性破壊が存在するにも関わらず歯肉の炎症が軽微であること, 病変の進行程度と局所刺激因子との関連性が明らかでないこと, 発現部位に特徴があること, 発現に性差があることなどの点で成人型の歯周炎とは異なった病態を示すとされている²⁾。この病変の成り立ちに関しては, 現在までのところ遺伝学的³⁾, 細菌学的, 免疫学的⁴⁾分

野などいろいろな方面から研究されている。とくに細菌学的見地からは, *Haemophilus actinomycetemcomitans* と *Capnocytophaga spp.* が関連するという報告⁵⁾がある一方, これらの細菌に特異的な病変ではないとする報告^{6,7)}もあり, 明らかな結論を得るに至っていない。そこで, 若年性歯周炎の発現時期に一致する少年少女期後半から青春(10歳代に相当する時期)までの中, 高生を対象として臨床的調査を行ない, 臨床所見と前述の2種類の細菌との関連性についての検索を試みた。

Microbiological investigation on periodontal disease in adolescent.

Takashi YAEGASHI, Teruyuki YANAGAWA, Atsushi KUMAGAI, Jinya SATO, Kazuyuki UYENO, Hisako HONDA* and Masaru KANEKO*

(Department of Periodontology, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka 020)

(*Department of Microbiology, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka 020)

岩手県盛岡市中央通1丁目3-27 (020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 16: 32-37, 1991

Table 1. The occurrence of *Capnocytophaga ochracea* and *Haemophilus actinomycetemcomitans* in each group by diagnosis (%).

Bacterial species	control	SG	PG	AP + JP
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	71.4 (10/14)	52.8 (19/36)	68.1 (32/47)	64.7 (33/51)
<i>Haemophilus actinomycetemcomitans</i>	14.3 (2/14)*	11.1 (4/36)*	38.3 (18/47)*	47.1 (24/51)*

SG=simple gingivitis PG=proliferative gingivitis AP=adult periodontitis

JP=juvenile periodontitis

(/)=Number of persons positive for the microbes/Total number of persons

* Statistically significant at P <0.01 (Chi-square test)

材料と方法

被検者は岩手県の岩泉地区に居住する中学生302名と高校生503名であり、学校医による齲蝕の検診に引き続いて、複数の歯科医師によって歯周組織と咬合関係の診査を実施した。第1段階として肉眼的炎症所見、切歯部と第一大臼歯部における歯周ポケット深度、アタッチメントロス、咬合関係について診査した後、歯周病変例、咬合異常例、健全例などに選別した。第2段階としては、これら歯周病変例について、ポケット深度、出血と排膿、gingival index (GI), plaque index (PII)などを精査した後、以下の4群に分類した。すなわち、プラークコントロールの徹底で炎症性病変の改善が予測される単純性歯肉炎群 (simple gingivitis: SG), 炎症性変化に伴う反応性の線維の増加の見られる増殖性歯肉炎群 (proliferative gingivitis: PG), 局所刺激因子の明らかな部位に骨吸収を伴う成人型の歯周炎群 (adult periodontitis: AP), 病態と病因との関連からいわゆる若年性歯周炎の範中に含まれると診断された群 (juvenile periodontitis: JP)である。これら歯周病変群134例と、健全な歯周組織を有する例から選択されたコントロール群14例の計148例 (中学生75例, 男子:46名, 女子:29名, 高校生73例, 男子:34名, 女子39名) に対して細菌学的検索を試みた。

検索材料の採取に際しては、採取部の歯肉縁上プラークを滅菌綿球とキュレットタイプのスクレーラーによって除去してから滅菌済みのペーパーポイントを30秒間、歯肉溝内に挿入する

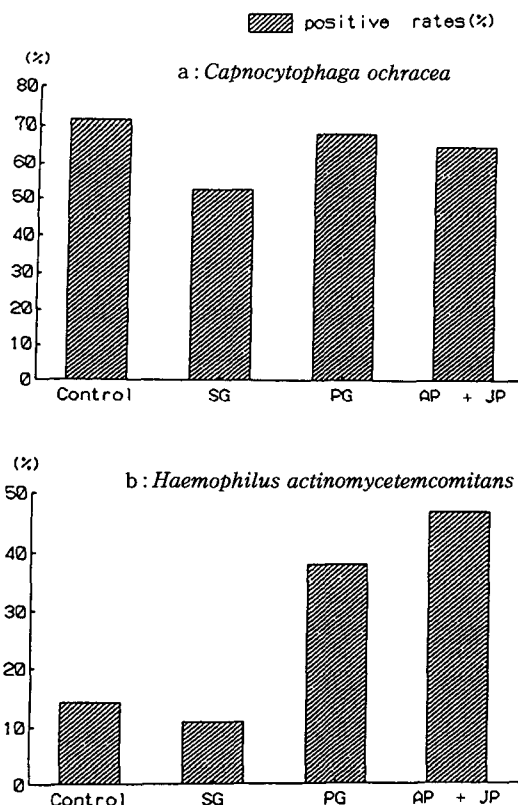


Fig. 1 The occurrence of *Capnocytophaga ochracea* and *Haemophilus actinomycetemcomitans* in each group by diagnosis.

SG=simple gingivitis

PG=proliferative gingivitis

AP=adult periodontitis

JP=juvenile periodontitis

方法をとった。ペーパーポイント摘出後、速やかに3mlのABCM broth (栄研)の入った小試験管中に浸してアイスボックス内に保管してお

Table 2. The occurrence of *Capnocytophaga ochracea* and *Haemophilus actinomycetemcomitans* in PG groups and AP + JP groups (%). Comparison of JHS and HS.

Bacterial species, JHS and HS	PG	AP + JP
<i>Capnocytophaga ochracea</i>		
JHS	72.4 (21/ 29)	43.8 (7 / 16)
HS	61.1 (11/ 18)	74.3 (26/ 35)
<i>Haemophilus actinomycetemcomitans</i>		
JHS	37.9 (11/ 29)	37.5 (6 / 16)
HS	38.9 (7 / 18)	51.4 (18/ 35)

JHS=junior high school students HS=high school students PG=proliferative gingivitis
 AP=adult periodontitis JP=juvenile periodontitis
 (/)= Number of persons positive for the microbes/Total number of persons

き、24時間以内に vortex mixer で攪拌後、0.03 ml を選択培地に塗抹して candle jar method, 37°C で培養した。選択培地としては、*Capnocytophaga spp.* では Rummens ら⁸⁾が使用した CAP 培地を、*H. actinomycetemcomitans* では Slots⁹ の TSBV 培地を改良したもの¹⁰⁾を用いた。培養および観察期間は、*Capnocytophaga spp.* で 3 日間、*H. actinomycetemcomitans* で 5 日間とし、培地上のコロニーを観察した。培地上に発育したコロニーのうちで、前述の 2 細菌の特徴（色、形態、滑走性など）を示すコロニーを選択し、グラム染色をほどこしてグラム陰性桿菌であることを確認した。さらに生化学的性状 [ミニテックシステム (BBL) 使用], 血液寒天培地での溶血性や、MacConkey 培地における発育の有無、さらにはオキシダーゼ反応などについても検索して同定した。

それぞれの細菌の存否と歯周病変との関連性や中学生と高校生の年齢との関連、さらには性別との関連についても、カイ自乗検定（危険率 1%）を用いて統計学的に比較検討した。

結 果

細菌学的検索は、成人型歯周炎 (AP) と若年性歯周炎 (JP) の歯周炎群 (AP+JP)、単純性歯肉炎群 (SG)、増殖性歯肉炎群 (PG)、コントロール群 (CONTROL) の 4 者について試みた。

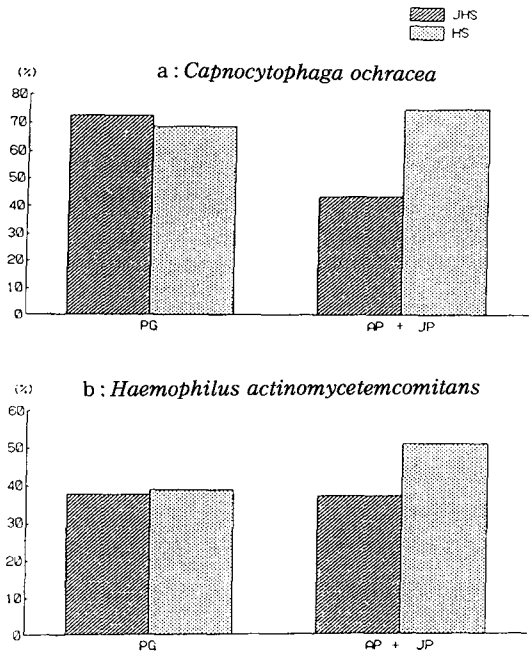


Fig .2 The occurrence of *Capnocytophaga ochracea* and *Haemophilus actinomycetemcomitans* in PG group, AP+JP group. Comparison of junior high school students (JHS) and high school students (HS) .

PG =proliferative gingivitis
 AP =adult periodontitis
 JP =juvenile periodontitis

Table 1 および Fig .1 a ,1 b はこれら 4 群について *C. ochracea* および *H. actinomycetemcomitans* を分離した人数と比率を示したも

Table 3. The occurrence of *Capnocytophaga ochracea* and *Haemophilus actinomycetemcomitans* in PG groups and AP + JP groups (%). Comparison of male and female.

Bacterial species, Male and Female	PG	AP + JP
<i>Capnocytophaga ochracea</i>		
Male	71.0 (22/ 31)	66.7 (16/ 24)
Female	62.5 (10/ 16)	63.0 (17/ 27)
<i>Haemophilus actinomycetemcomitans</i>		
Male	38.7 (12/ 31)	54.2 (13/ 24)
Female	37.5 (6 / 16)	40.7 (11/ 27)

PG=proliferative gingivitis AP=adult periodontitis JP=juvenile periodontitis
(/)= Number of persons positive for the microbes/Total number of persons

のである。なお分離菌株は、中学生と高校生148名から *C.ochracea* 94株, *H. actinomycetemcomitans* 48株を分離同定したが, *C.gingivalis*, *C.sputigena* は分離できなかった。*C.ochracea* は歯周病変とは関係なく分離された (Fig .1 a)。また, *H. actinomycetemcomitans* は4群間の分離率に歯周病変の状態と関連して有意差を認めた (Table 1, Fig .1 b)。

次いで、検査対象数が比較的多い増殖性歯肉炎 (PG) 群と歯周炎 (AP+JP) 群について、中、高校生と性別との関連を調査した。Table 2 と Fig .2 a, 2 b は中学生 (JHS) と高校生 (HS) 間の PG 群と AP+JP 群について2種類の細菌を分離同定できた人の比率の比較を、Table 3 および Fig .3 a, 3 b は男女間におけるその比較を示したものである。増殖性歯肉炎 (PG) 群については *C. ochracea*, *H. actinomycetemcomitans* とともに中学生、高校生の間に差異は認められなく、歯周炎 (AP+JP) 群では *C. ochracea*, *H. actinomycetemcomitans* とともに高校生で高かった (Fig .2 b) が、統計学的に有意の差は認められなかった (Fig .2 a)。また、男女間についてみると、*C. ochracea* と PG 群の *H. actinomycetemcomitans* は男女ともほぼ同程度であり、歯周炎群 (AP+JP) の *H. actinomycetemcomitans* で男子がやや高い分離率を示した (Fig .3 b) が、統計学的に有意の差は認められなかった。

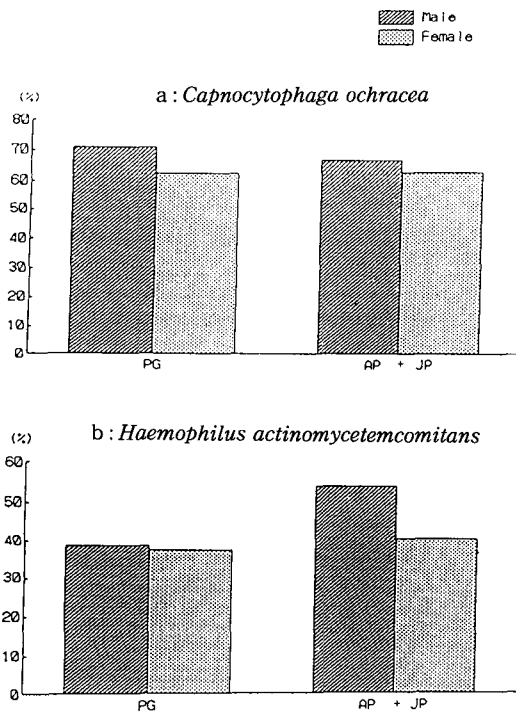


Fig .3 The occurrence of *Capnocytophaga ochracea* and *Haemophilus actinomycetemcomitans* in PG group, AP+JP groups. Comparison of male and female.

P G =proliferative gingivitis
A P =adult periodontitis
J P =juvenile periodontitis

考 察

Capnocytophaga spp. は一般にヒトの口腔内歯肉溝の健全部および病的部位の両者から分離

される細菌である¹¹⁾。歯肉縁下プラークを選択培地を用いて検索した報告によると、歯肉炎部では *C. gingivalis* が、また若年者の歯周炎部では *C. ochracea* が高い割合で存在していたとしている¹²⁾。今回の検索では、そのような特定の病変部に特定の細菌が局在するような傾向はとくに認められなかった。一方、若年者の比較的進行した辺縁性歯周炎部で、*Capnocytophaga* spp. が分離されたが、とくに優勢ではなかったという報告¹³⁾や、歯肉縁下に近接する部位のプラークの検索では *Capnocytophaga* spp. は歯肉縁下よりも歯肉縁上部や、むしろ健全部に多く存在しており、この細菌が破壊的な歯周病の活動的要因とは考えにくいとする報告¹⁴⁾がある。今回の結果で若年者の歯周炎部に *Capnocytophaga* spp. が高率に検出されなかったことは彼らの報告と一致する。

H. actinomycetemcomitans は口腔細菌叢の一部をなしており¹¹⁾、成人型歯周炎患者および若年性歯周炎患者からも分離されることが報告されている¹⁵⁾。*H. actinomycetemcomitans* に関しては、当初は若年性歯周炎との関連性が強く指摘^{16, 17)}されていたが、近年ではむしろ成人型歯周炎と関連が深いことを示す報告^{4, 5)}もあり、研究者によって必ずしも一致していない。歯周ポケット内の細菌叢を検索する場合、それぞれサンプリング法、選択培地、培養期間など実験条件が異なっていることを考慮に入れなければならないが、今回の検索結果から *H. actinomycetemcomitans* と歯周病変との間には何らかの関連があることが示唆される。

歯周病に関連するこれらの細菌については、プロービング時に病変部から健全部へ感染する可能性¹⁸⁾や、家族性に感染する可能性などから、歯周病を外因感染と考えた研究報告¹⁹⁾がある。しかし、現段階ではこの細菌が健全な歯肉溝部にも存在することを考慮に入れると、単なる外因感染として考えることには無理があるようにも思われた。今後は、内因感染であるとする従来の考え方²⁰⁾をも含めて、免疫学的な観点から宿主の免疫能と細菌の病原性との関係を解明す

ることが必要であると考えられる。

結 論

1. *Capnocytophaga ochracea* は、若年者の歯周病変の程度に関係なく存在した。それに対して *H. actinomycetemcomitans* では病態と関連して分離陽性率に有意差を認めた。

2. 増殖性歯肉炎、成人型歯周炎、若年性歯周炎と診断された例において、中学生と高校生および男女間では、*C. ochracea*, *Haemophilus actinomycetemcomitans* の両細菌とも分離陽性率に有意差は認めなかった。

参 考 文 献

- 1) 上野和之: 若年者にみられる歯周疾患について, 日本歯科評論, 488: 157-168, 1983.
- 2) Baer, P; N;: The case for periodontosis as a clinical entity; *J. Periodontol.* 42: 516-520, 1971.
- 3) Saxen, L;: Heredity of juvenile periodontitis; *J. Clin. Periodontol.* 7: 276-288, 1980.
- 4) Sandholm, L., Tolo, K., Inger, O;: Salivary IgG, a parameter of periodontal disease activity? High responders to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4 in juvenile and adult periodontitis; *J. Clin. Periodontol.* 14: 289-294, 1987.
- 5) Hammond, B; F; and Stevens, R. H.; *Capnocytophaga* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: Occurrence and pathogenic potential in juvenile periodontitis; In: eds; Genco, R; J; and Mergenhagen, S; E.; Host-parasite interactions in periodontal diseases, American society for microbiology, Washington, D. C. pp 46-61, 1982.
- 6) Slots, J.; Bacterial specificity in adult periodontitis-A summary of recent work. *J. Clin. Periodontol.* 13: 912-917, 1986.
- 7) Wolf, L. F., Liljemark, W. F., Bloomquist, C. G., Pihlstrom, B. L., Schaffer, E. M. and Bandt, C. L.; The distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human plaque; *J. Periodont. Res.* 20: 237-250, 1985.
- 8) Rummens, J. L., Fosseppe, J. M., Cruyter, M. D., Vyver, H., Neyt, L. and Landuyt, H. W.; Isolation of *Capnocytophaga* species with a new selective medium. *J. Clin. Microbiol.* 22: 375-378, 1985.
- 9) Slots, J.; Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Clin. Microbiol.* 15: 606-609, 1982.
- 10) 本田寿子, 白岩美樹, 外川正, 金子克: *Haemophilus aphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 選択培地の検討, 日細菌誌, 41: 813,

1986.

- 11) Edwin, H. L. , Albert, B. , William J. H. Jr. , and Shadomy, H. J. : *A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga* species, In: Manual of clinical microbiology, forth ed. , American society for micorbiology. Washington, D. C. pp 312- 314, 1985.
- 12) Savitt, E. D. and Socransky, S. S. : Distribution of certain subgingival microbial species in selected periodontal conditions *J. Periodont. Res.* 19 : 11- 123, 1984.
- 13) 波多野康隆 : 辺縁性歯周炎における歯周ポケットの細菌学的研究 - 特に若年者について -, 鶴見歯学, 10 : 39- 56, 1984.
- 14) Holdman, L. V. , Moor, W. E. C. , Cato, E. P. , Burmeister, J. A. , Palcanis, K. G. and Ranney, R. R. : Distribution of *Capnocytophaga* in periodontal microfloras. *J. Periodont. Res.* 20 : 475- 485, 1985.
- 15) 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.
- 16) Asikainen, S. , Jousimies-Somer, H. , Kanervo, A. , and Saxen, L. : *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and clinical periodontal status in Finish juvenile periodontitis. *J. Periodontol.* 57: 91- 93, 1986.
- 17) Eisenmann, A. A. C. , Eisenman, R. , Sousa, O. and Slots, J. : Microbiological study of localized juvenile periodontitis in Panama. *J. Periodontol.* 54: 712- 713, 1983.
- 18) Christersson, L. A. , Slots, J. , Zambon, J. J. and Genco, R. J. : Transmission and colonization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis patients. *J. Periodontol.* 56: 127- 131, 1985.
- 19) Gunsolley, J. C. , Ranney, R. R. , Zambon, J. J. , Burmeister, J. A. and Schenkein, H. A. : *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families afflicted with periodontitis. *J. Periodontol* 61: 643- 648, 1990.
- 20) 高添一郎 : 口腔細菌と歯周病, 横田健, 川名林治編集 : 標準微生物学第2版, 医学書院, 東京, 290- 293 ページ, 1985.