

主論文題名

思春期における歯肉炎の細菌学的研究

学位申請者 鶴田圭伊子

思春期における歯肉炎の細菌学的研究

鶴田圭伊子

Bacteriological Study of Gingivitis in  
Pubertal Children

Keiko TSURUDA  
S. C.

(平成 年 月 日受付)

緒 言

歯肉炎は広範囲な年齢層において認められる疾患であり、その多くは歯周炎に移行すると考えられている。歯肉炎の疫学調査によると、思春期において歯肉炎の有病率、炎症程度に高い値が報告<sup>1) - 4)</sup>されており、中学生を対象とした最近の調査においても、岩本ら<sup>5)</sup>

は97%、岡本ら<sup>6)</sup>は82%と高い歯肉炎有病率を報告している。また、5～14歳における歯肉炎について調査したMasslerら<sup>7)</sup>は歯肉炎の有病率は歯の萌出後加齢とともに増加し、11歳で有病率ならびに炎症程度が最も高い値を示し、以後は減少すると報告している。さらに、思春期以降については有病率、炎症程度ともに減少するという報告<sup>1) - 4), 8)</sup>も数多くあり、思春期の歯肉炎がこの時期に限局するのか、成人の歯周疾患に移行していくのかは不明である。

思春期における歯肉炎では炎症の進行・増悪に性ホルモンが関与する可能性が指摘されている。青山<sup>9)</sup>は中学生を対象として唾液中の性ホルモン濃度と歯肉炎との関係について検索し、エストラジオールは思春期における歯肉の炎症を増悪し、これに対しプロゲステロンは抑制的に作用する可能性を示唆している。しかし、性ホルモンが歯肉の炎症に影響を及ぼす機序については、未だ明らかにされ

ていない。

一方、歯肉炎の直接的な原因は細菌性プラークであることが示され<sup>10), 11)</sup>、歯肉炎は歯肉溝に常在する菌叢によって引き起こされる非特異的な炎症反応であると考えられている<sup>12)</sup>。しかし、歯周疾患に関わる菌叢は病型により異なることが報告<sup>13) - 16)</sup>されており、また、妊娠時の血清エストロジオール濃度と歯肉溝内黒色色素産生性 Bacteroides の菌数間には正の相関があること<sup>17)</sup>や、性ホルモンが in vitro で細菌の増殖に対し直接的に作用すること<sup>9), 18), 19)</sup>が報告されている。これらのことより、性ホルモンの影響を大きく受けると考えられる思春期において、歯肉炎の菌叢は特異的である可能性が考えられる。また、中学生という時期は年齢的に思春期とみなされるばかりではなく、思春期の始まりにあたり、特に内分泌の変動の影響が大きい時期と考えられる。そこで、この時期の歯肉炎の特性を明らかにすることは、歯周保健<sup>5)</sup>、

歯周疾患の早期処置の観点から重要である。

本研究は、思春期における歯肉炎の菌叢の特性を明らかにする目的で、中学生における歯肉縁下細菌叢を検索するとともに、成人の歯肉炎の同菌叢との比較、臨床状態との関係について検討した。

## 材料および方法

### 1. 被験者

広島市内の某公立中学校の全校生徒1,323名(表1)を対象とした歯周疾患実態調査より、歯肉炎を有する者と健常歯肉を有する者45名を被験者として選択した。これらの生徒については歯肉の状態をより詳細に診査するために、広島大学歯学部附属病院予防歯科に来院させ、上顎切歯または側切歯のうち1歯を被験歯として下記のごとく口腔内診査を行った。その診査結果を基にして、健康群13名

と歯肉炎群30名の選別を行った。選別の基準は、下記のGingival index中央値が0の者を健康群、1以上を歯肉炎群とした。また、成人の歯肉炎の菌叢との比較を行なうため、成人の被験者として広島大学歯学部学生より上記基準にて健康群10名と歯肉炎群8名を選択した(表2)。なお、歯肉炎を有する成人被験者については被験歯のデンタルX線撮影を行ない、歯槽骨の吸収が無いことを確認した。

表 1 , 表 2

## 2. 口腔内診査

### (1) Gingival index (GI)

歯肉の炎症程度はLöe and Silness<sup>20)</sup>の評価基準を用いて評価した。なお、被験部位は1歯につき6部位(唇側および口蓋側の近心、中央および遠心)とした。

### (2) Probing depth (PD)

Probing depthの測定はperiodontal probe (PCP.11, Hu-Friedy社, USA)を用いて、被験歯の上記6部位について0.5mm単位で行っ

た。

### (3) Bleeding index (BI)

被験歯の唇側および口蓋側について， probingの際に出血が認められた場合を1とし，認められなかった場合は0として評価した。なお， BI値は出血が認められた部位数を被験部位数で除して算出した。

### (4) Plaque index (PI)

Silness and Løe<sup>21)</sup>の方法に準じて， 6部位について歯垢の付着量を評価した。

## 3. 細菌学的検索

### (1) 歯肉縁下プラークの採取

歯肉縁下プラークの採取は Slots ら<sup>22)</sup>の方法に準じて，滅菌ペーパーポイント（#45，而至歯科工業，東京）を用いて行った。すなわち，ロール綿で簡易防湿を施し，滅菌キュレットおよび綿球により歯肉縁上プラークを可及的に除去した後，被験歯の6部位にペーパーポイントを挿入した。その際，歯肉溝または歯肉ポケットに抵抗が感じられるまで静

かに挿入を行った。その位置で30秒間保持した後、ペーパーポイントを0.6mlの prereduced anaerobically sterilized (PRAS) Ringer溶液の入った試験管に入れ、ボルテックスキキサーで30秒間攪拌し懸濁した。

## (2) 培養

得られた菌懸濁液はPRAS Ringer溶液を用いて $10^{-1}$ ～ $10^{-5}$ までの連続希釈を行い、各希釈液0.1mlをビタミンKとヘミンを添加した5%羊脱線血加Trypticase Soy寒天培地に滴下し、塗抹を行った。同時に、Trypticase Soy血液寒天培地を基礎培地として調製した表3<sup>23)</sup>-<sup>26)</sup>に示す選択培地およびMitis-Salivarius寒天培地に菌の希釈液を0.1mlずつ塗抹接種した。血液寒天培地ならびに選択培地は嫌気ボックス(AZ型、平沢製作所、東京)内で7日間、37℃にて培養( $N_2:80\%$ ,  $H_2:10\%$ ,  $CO_2:10\%$ )を行った。

表 3

## (3) 細菌の分離



嫌気培養後の血液寒天培地のコロニー数を算定し、PRAS Ringer 溶液 1 ml 当りの菌数を求め、培養可能な全菌数とした。また、各選択培地の発育菌についても、コロニー性状、グラム染色性および細胞形態により目的菌であることを確認し、発育菌数の算定を行った。次に、非選択培地下での細菌叢の検索のため、100 個前後のコロニーの発育が認められた血液寒天平板より、ランダムに 40~50 個のコロニーを釣菌し、新たな血液寒天培地上に分離した。7 日間嫌気培養後、全分離菌についてコロニー形態、グラム染色性、細胞形態および配列を観察し、純培養の確認のため画線塗抹による再分離を行った。また、コンタミネーションが疑われた菌株については、単一のコロニーが得られるまで画線塗抹による再分離操作を繰り返した。このように純培養であることを確認した分離菌に対し、通性嫌気性菌と偏性嫌気性菌との区別をするために好気培養ならびに 5% 炭酸ガス存在下での培養を

行った。

#### (4) 細菌の同定

属の決定は V. P. I. Anaerobe Laboratory Manual<sup>27)</sup> および嫌気性菌の分離と同定法<sup>28)</sup> に従った。すなわち、グラム染色性と形態の観察により桿菌に分類された菌株は芽胞染色および80℃、10分間の耐熱試験を行い、有芽胞桿菌と無芽胞桿菌に区別し、芽胞を形成する菌は Clostridium 属とみなした。無芽胞桿菌および球菌についてはグルコースからの終末代謝産物の分析を行い、グラム染色性および形態により属を決定した。なお、グルコース終末代謝産物の検索は Anaerobe Laboratory Manual に準じて試料を調整し、gas chromatograph (GC-4BM, 島津製作所, 京都) を使用して行った。

種の決定は Anaerobe Laboratory Manual<sup>27)</sup> ならびに Bergey's Manual of Systematic Bacteriology<sup>29), 30)</sup> に従い、生化学的性状試験を行って決定した。生化学的性状試験は、

糖分解性，カタラーゼ，オキシダーゼおよびウレアーゼの反応性，アセトインならびにインドールの産生性，エスクリンとスターチの加水分解性，硝酸塩の還元性ならびにスレオニンおよび乳酸からのプロピオン酸産生能について行った。また，糖分解性試験はアミグダリン，アラビノース，セロビオース，フラクトース，ガラクトース，グルコース，イヌリン，ラクトース，マンニトール，ラフィノース，リボース，ソルビトール，シュクロースおよびキシロースの14種類の糖を基質として行った。なお，エスクリンとスターチの加水分解性および硝酸塩還元性試験については簡易同定用キットのミニテックシステム (BBL, USA) を使用して行った。

また，黒色色素産生性 Bacteroides については選択培地からコロニーを分離し，ミニテックシステムを用いた生化学的性状試験により同定を行った。

#### (5) 位相差顕微鏡による細菌検査

菌懸濁液の原液 2.5ulをマイクロディスペンサー（住友ベークライト，東京）を用いて Petroff-Hauser chamberに滴下し，位相差顕微鏡下（×1,000）で形態別菌数の計測を行った。細菌の形態分類は Listgarten and Helledén<sup>31)</sup>の基準に従い，coccoid cells, motile rods, spirochetes および others に分類した<sup>32)</sup>。これらの各計測値から，被検菌を総合的に鑑別した後，PRAS Ringer 溶液 1 ml 当りの全菌数ならびに各菌の比率を算定した。

#### 4. 統計処理

健康群と歯肉炎群ならびに中学生と成人間の比較には Mann-Whitney の U 検定を用いた。また，血液寒天培地からの分離同定結果と選択培地による培養結果の比較は Wilcoxon の符号順位検定を用いた。次に，中学生の歯肉炎群における菌の比率と臨床指標との相関関係は Spearman の順位相関係数を用いて検定し，菌叢の類似性についてはクラスター分析を用いて検討した。

## 結 果

### 1. 臨床所見

表 4 は各群の被験歯についての口腔内診査結果を示したものである。中学生歯肉炎群のGI中央値の平均は1.50, 成人歯肉炎群のGI中央値の平均は1.25であった。また, PDは中学生健康群では平均1.38mmであったのに対し, 歯肉炎群では平均2.16mmと有意に高く, 成人においても健康群では平均1.29mmであったが, 歯肉炎群では平均2.12mmと有意に高い値を示した。しかし, 健康群, 歯肉炎群とも中学生と成人間にはいずれの臨床指標にも有意な差は認められなかった。なお, 中学生, 成人のいずれにおいても4mm以上のPDを示す測定部位は認められなかった。

表 4

### 2. 中学生の歯肉縁下細菌叢について

### (1) 選択培地下での細菌叢

中学生の健康群と歯肉炎群における菌叢の相違を検討する目的で、歯肉炎群30名のうちGI中央値が1.5以上の者12名と健康群12名の歯肉縁下細菌叢を検索した。表5は選択培地を用いて嫌気培養した6種の歯肉縁下細菌の全菌数に占める比率を示したものである。健康群と歯肉炎群を比較すると、歯肉炎群で Fusobacterium の比率が有意に高い値を示したが、黒色素産生性 Bacteroides の比率には両群間に有意差は認められなかった。また、歯肉炎群では Actinomyces と Streptococcus の比率が有意に低く、特に Actinomyces は健康群で39.6%であったのに対し、8.9%と低い値であった。健康群では Actinomyces と Streptococcus の占める比率が61%と優勢であったが、歯肉炎群では24%にすぎず、使用した6種類の選択培地における発育菌の比率の合計も、健康群では65%であったが、歯肉炎群では32%と低い値を示した。

表 5
-----

(2) 非選択培地下での細菌叢

中学生の歯肉炎の菌叢構成を詳細に調べる目的で、歯肉炎群30名中ランダムに抽出した8名について、血液寒天培地からの細菌の分離・同定を行った。

表6は全分離菌についての同定結果を示したものである。8名の被験者から得られた分離細菌の総数は371株であり、その内の273株(73.6%)が分離同定された。

グラム陽性桿菌は培養菌叢中44.8%を占めており、その中では Actinomyces が平均42.8%で最も優勢であった。特に、A. israelii (16.4%) と A. naeslundii (12.7%) が優位を占め、A. naeslundii は8人全員に認められた。A. viscosus と A. odontolyticus は異なる1人の被験者においてそれぞれ38%、42.5%と優勢であったが、それ以外の被験者では分離比率が低く、平均すると A. viscosus 6.2% および A. odontolyticus 6.1% であった。グラム

陽性桿菌の少数菌としては、Arachnia propionica (1株)、Eubacterium saburreum (1株)、Clostridium (1株) が分離された。

グラム陽性球菌は培養菌叢中 11.6% 認められ、その中では Streptococcus が 7.6% と最も多く、次いで Peptostreptococcus が 1.7% 認められた。Streptococcus の中では S. milleri が分離頻度、菌叢に占める比率ともに最も多い菌種であった。それ以外としては、S. sanguis (1.7%) と mutans streptococci (1.3%) が分離された。Peptostreptococcus は P. micros のみ認められ、Staphylococcus は特定の分離菌種は認められなかった。

グラム陰性桿菌は培養菌叢中 34.4% を占めており、その内 22.7% は嫌気性菌であった。グラム陰性桿菌において最も優勢な菌種は Bacteroides intermedius で、8人中7人に認められ、菌叢に占める比率も 9.7% であった。Fusobacterium nucleatum (2.6%) や Selenomonas sputigena (1.4%) は菌叢に占める比率



は多くなかったが，前者は 8 人中 6 人に，後者は 8 人中 5 人に認められ，比較的高い頻度で分離された。通性嫌気性桿菌としては，Capnocytophagaと Eikenella corrodens が分離された。Capnocytophagaは 8 人中 6 人に平均 5.3%認められたが，E. corrodens は 8 人中 2 人のみ平均 1%認められたにすぎなかった。Capnocytophagaでは C. ochraceaが 4.0%認められ優勢であった。

グラム陰性嫌気性球菌では Veillonella parvula のみが分離されたが，8 人中 1 人に 2.0%認められたにすぎなかった。

#### 表 6

### (3) 非選択培地と選択培地における培養結果の比較

上記の被験者 8 名について，分離同定結果と選択培地による培養結果との比較検討を行った。その結果を表 7 に示す。非選択培地に比べ，選択培地培養において Actinomyces と Capnocytophaga の全菌数に占める比率が有意

に低く ( $p < 0.01, p < 0.05$ ), それに反して Streptococcus の比率が有意に高い値であった ( $p < 0.05$ )。特に, 菌叢の優勢菌である Actinomyces は選択培地において血液寒天培地の約  $1/3$  の値であった。一方, 血液寒天培地からの分離同定菌  $73.6\%$  のうち, 選択培地の対象菌である Bacteroides, Fusobacterium, E. corrodens, Campytophaga, Actinomyces および Streptococcus の比率の合計は  $69\%$  であった。

表 7

### 3. 中学生と成人の歯肉縁下細菌叢の比較

思春期における歯肉炎の菌叢の特性をさらに明らかにするために, 中学生と成人の歯肉縁下菌叢を選択培地を用いて検索し, 比較検討を行った。

#### (1) 位相差顕微鏡による検査結果

表 8 は位相差顕微鏡により形態別に分類した細菌の全菌数に占める比率を示したもので

ある。中学生，成人とも健康群では motile rods および spirochetes の比率は 0.5% 以下と低い値であったが，歯肉炎群では両者とも有意に高い値を示した。Coccoid cells は，中学生の健康群と歯肉炎群との間には比率に有意差は認められなかったが，成人では健康群に比べ歯肉炎群で有意に低い比率であった。中学生と成人を比較すると，成人の歯肉炎群で motile rods と spirochetes の比率が有意に高く，中学生の歯肉炎群の約 2 倍の値を示していた。

表 8

(2) 選択培地による培養結果

表 9 は選択培地を用いて嫌気培養した歯肉縁下細菌の全菌数に占める比率を表したものである。中学生の健康群と歯肉炎群を比較すると，歯肉炎群で Bacteroides および Fusobacterium の比率が有意に高く，Actinomyces の比率が有意に低い値を示した。成人においても同様の傾向が見られたが，Fusobacterium

は両群間に有意差は認められなかった。中学生と成人を比較すると、健康群、歯肉炎群のいずれにおいても有意な差は見られず、培養した6菌種の比率には中学生と成人で明らかな差は認められなかった。また、黒色色素産生性 Bacteroides について詳細に検討するために、選択培地よりコロニーの分離同定を行ったが、B. intermedius のみに健康群と歯肉炎群間で有意差が認められた。しかし、中学生と成人を比べると全く有意差はなく、Bacteroides 種においても中学生と成人には差が見られなかった。

表 9
-----

#### 4. 中学生の歯肉炎と細菌叢との関係

##### (1) 歯肉縁下細菌と臨床指標との相関

中学生の歯肉炎群30名について、歯肉炎に関連する菌を検索するために Spearman の順位相関係数を求めた。表10に示すように、motile rods, spirochetesの比率は検索した臨床指標4つのうち3つと正の相関が認められ、

特に motile rodsは GI, PD および BIと正の相関を示した。また, 培養細菌では E. corro-  
densの比率が GIおよび BIと, B. intermedius  
が BIと正の相関を示した。一方, Capnocyto-  
phaga, Actinomycesおよび Streptococcus の  
比率については GIとの関係は全く認められず,  
PD, BI, PIのいずれかと負の相関を示していた。

表 10

## (2) クラスター分析

被験者間の菌叢の類似性から歯肉炎の菌叢の特性を検討する目的で, 健康群と歯肉炎群を合わせた中学生全体に対してクラスター分析を行った。図 1 は, 細菌の比率を説明変数とし, サンプルである中学生被験者を類似度の高い者が隣合うように配列した樹形図である。図中の点線における類似度により, 被験者は 3 つのクラスターに分けられた。各クラスターの構成を見ると, クラスター 3 に属した者は全て健康群として選択した被験者であ

り， クラスタ ー 1 および 2 は 歯 肉 炎 群 に 属 し た 被 験 者 で あ っ た 。 す な わ ち ， 歯 肉 炎 群 に お い て 2 つ の 異 な る 菌 叢 パ タ ー ン が 存 在 す る こ と が 明 ら か と な っ た 。 な お ， 全 例 中 6 例 は 3 つ の クラスタ ー の い ず れ に も 類 似 性 を 示 さ な か っ た 。

表 11 は 各 クラスタ ー 間 の 菌 叢 パ タ ー ン を 比 較 し た も の で あ る 。 クラスタ ー 3 は クラスタ ー 1 および 2 に 比 べ ， *motile rods* , *spirochetes* , *B. intermedius* および *Fusobacterium* の 比 率 が 有 意 に 低 く ， *Actinomyces* の 比 率 が 有 意 に 高 い 値 を 示 し た 。 ま た ， クラスタ ー 1 と クラスタ ー 2 を 比 較 す る と ， クラスタ ー 2 で *motile rods* , *B. intermedius* および *E. corrodens* の 比 率 が 有 意 に 高 い 特 徴 が 見 ら れ た 。 各 クラスタ ー 間 の 臨 床 状 態 を 比 較 す る と ， クラスタ ー 1 および 2 は クラスタ ー 3 に 比 し GI , PD および PI が 有 意 に 高 い 値 を 示 し ， クラスタ ー 2 で は さ ら に BI も 有 意 に 高 い 値 で あ っ た 。 し か し ， クラスタ ー 1 と クラスタ ー 2 と の 間

にはいずれの口腔内指数にも有意な差は認められなかった。

図 1, 表 11

## 考 察

嫌気培養技術の進歩により、歯周疾患の歯肉縁下細菌叢の研究が数多くなされるようになり、歯周疾患は細菌感染症として捉えられるようになった。しかし、疾患の原因や進行に関連する細菌学的所見には研究者間で結果の相違が認められ、この点について、Moore<sup>3,3)</sup>はその総説の中で実験手法の相違、対象とする臨床状態の相違を指摘している。しかしながら、現在のところ細菌検索の手法は未だ標準化されておらず、実験目的に応じて方法を選択するのが通常である。本研究では、試料の採取方法としてペーパーポイントを用いたが、その理由として比較的浅いポケットから

も確実に試料の採取が行え、簡便かつ操作の際に出血をきたしにくいという利点があること、さらに病原的意義がより高いと考えられる非付着性プラークを選択的に採取すると言われている<sup>34)</sup>ことを考慮したためである。また、試料の採取方法とならび重要である試料の分散方法はボルテックスミキサーによる攪拌方法を用いた。一般的な分散方法としては、この他に超音波処理、ガラスビーズを加えて攪拌する方法があるが、超音波処理を行うと *spirochetes* や脆弱な細菌が選択的に破壊される危険性がある<sup>35)</sup>と言われており、ガラスビーズ法では顕微鏡下での検索がしにくいという欠点がある。本研究では位相差顕微鏡による菌の形態観察を行うため、菌体の選択的な破壊やガラスビーズ等の影響のない方法としてボルテックスミキサー法を用いた。現在、細菌の検索方法としては暗視野または位相差顕微鏡で観察する方法と培養法とに大別される。顕微鏡による細菌の形態観察の



みでは菌種を特定することが困難であるため<sup>35)</sup>、菌叢を調べるには培養法との併用が一般的である。本研究は菌叢の培養法として、操作の煩雑さを緩和する目的で考案された選択培地による方法を主に用いた。しかし、選択培地を使用した場合、必ずしも菌叢の構成菌をすべて考慮しているとは限らず、さらに選択培地の選択性の違いにより、菌叢に占める各菌の比率がそのまま再現されるとは限らない<sup>33)</sup>。本研究においても、選択培地を用いて中学生の歯肉縁下細菌叢を検索した結果、歯肉炎群では6種類の選択培地による発育菌の比率の合計が32%と低い値を示しており、非選択培地からの分離同定結果と選択培地による培養結果の比較より、菌叢の優勢菌である Actinomyces の回収率が選択培地において低かったことが大きく影響していると考えられた。しかし、非選択培地から分離同定された菌の合計74%のうち、本研究で使用した選択培地の対象菌の占める比率は69%であった

ことから、この選択培地の組合せは歯肉炎における優勢菌叢をよく反映しているものと思われる。

本研究において、思春期の歯肉炎の縁下細菌叢は Actinomyces (42.8%) を主体とするグラム陽性菌が 56% を占め、B. intermedius (9.7%) を主体とするグラム陰性嫌気性桿菌が 22.7% を占める構成であった。この菌叢構成は、成人の慢性歯肉炎を対象とした Slots ら<sup>37)</sup> の報告において、歯肉縁下細菌叢は Actinomyces と Streptococcus を主体とするグラム陽性菌が 56.3% を占め、グラム陰性嫌気性桿菌が 25% 認められたという結果によく一致した。また、Syed and Loesche<sup>38)</sup> は成人の実験歯肉炎は Actinomyces 優勢の菌叢であり、菌叢に占める比率は 44.3% であったことを報告している。さらに、GI が 1 程度の非出血性の歯肉炎 (nonbleeding gingivitis) では A. israelii の比率が増加することも報告<sup>39)</sup> しており、本研究の結果においても A. israelii

が Actinomyces の優勢菌種であり，同様の傾向が認められた。

歯肉炎ではグラム陰性菌が炎症の進行と共に増加することが報告<sup>40), 39)</sup>されており，さらに歯周炎に関係する菌も認められるようになることが Moore ら<sup>41)</sup>により報告されている。本研究においては，歯肉炎群でグラム陰性菌の優勢菌種は B. intermedius であり，菌叢に占める比率は 9.7%であった。成人の歯肉炎の報告では B. intermedius の比率は，Slots ら<sup>37)</sup> が 11%，White and Mayrand<sup>42)</sup> が 8%と報告している。また，本研究においては黒色素産生性 Bacteroides の大半は B. intermedius であり，B. gingivalis は全く検出されなかった。思春期を対象とした Moem-belii ら<sup>43)</sup>，Yanover ら<sup>44)</sup> の報告や 7～19 歳を対象とした Wojcicki ら<sup>45)</sup> の報告でも B. gingivalis は検出されておらず，本研究の結果はこれらの報告と一致するものであった。B. gingivalis は慢性の歯肉炎病巣に多く検出

されるという報告はなく<sup>46)</sup>、進行性歯周炎の病変部位から優位に分離されることから、成人性歯周炎の関連菌と考えられており<sup>47)</sup>。<sup>48)</sup>、Moore<sup>33)</sup>は総説の中で歯周破壊がすでに生じた後に出現するのではないかと述べている。本研究の被験者では4mm以上のPDを示す部位は認めらず、GI中央値も1人を除く被験者で3以下であったことから、B. gingivalisは本研究の対象とした歯肉炎においてはまだ定着していないものと思われる。また、若年性歯周炎において注目されている Actinobacillus actinomycetemcomitansも本研究では全く検出されなかった。

思春期の歯肉炎の菌叢の特異性を明らかにするため、中学生と成人の歯肉炎における優勢菌叢を比較した結果、いずれの選択培地の発育菌にも有意差は認められなかった。Wojcickiら<sup>45)</sup>は思春期前後に比べて思春期で B. intermedius の比率が有意に高い値を示し、性ホルモン等による歯肉縁下の環境変化が影

響している可能性を報告している。しかし、Yanover ら<sup>44)</sup>によると黒色素産生性 Bacteroides は暦年齢、骨年齢、生理的成熟度および血清エストラジオール濃度のいずれとも関係が認められず、思春期におけるホルモン変化は歯周炎関連菌の定着を促進するとは限らないことを報告している。また、4～6歳児における歯肉炎の菌叢と成人の歯肉炎の菌叢には明らかな差が認められなかったという報告<sup>49)</sup>もあり、本研究においても思春期の歯肉炎と成人の歯肉炎の優勢菌叢にはほとんど差がなかったことから、思春期の歯肉炎における菌叢は特異的なものではなく、成人の歯肉炎の菌叢に引き継がれていく可能性が示唆された。中学生の歯肉炎群では成人に比べ motile rods と spirochetes の比率が有意に低い値を示したが、これらの菌については歯周疾患との関連性がいわれており<sup>33)</sup>、特に spirochetes と PD との関係が報告されている<sup>15), 48), 50) - 52)</sup>。また、Loesche ら<sup>53)</sup>に

よると、歯周ポケット内の嫌気度を表す酸素分圧が低い程 *spirochetes* の比率が高いことが報告されており、中学生と成人ではポケットの様態が異なり、嫌気度に相違があるために *motile rods* や *spirochetes* の比率に差が生じた可能性が考えられる。

思春期の歯肉炎においては、局所刺激により生じた炎症が性ホルモンの変化により修飾され、増悪するといわれている<sup>54)</sup>。青山<sup>9)</sup>は中学生において唾液中エストラジオール濃度が高い群では歯肉出血が多く認められ、唾液中プロゲステロン濃度が高い群では歯肉の炎症程度が軽かったことより、エストラジオールは歯肉の炎症に対し増悪的に作用し、プロゲステロンは防御的に作用する可能性を報告している。また、宮城ら<sup>55)</sup>はヒト末梢血中の多形核白血球 (PMN) の遊走能に対する性ホルモンの影響を *in vitro* で検索し、エストラジオールは PMN の遊走能を低下させ、プロゲステロンは遊走能を高進させることを報告

している。一方、本研究において思春期の歯肉炎の優勢菌叢は成人と差がなく、特異的な菌叢ではなかったことから、性ホルモンは菌叢に作用するというよりも炎症反応に対し影響を及ぼすことにより歯肉炎に関与する可能性が推察された。

菌叢と歯肉炎の発現進行との関連については多くの報告があるが、最近では Theilade<sup>1,2)</sup> が述べているように歯肉溝中の常在菌が十分量増加することにより歯肉炎が生じ、さらに菌叢中のグラム陰性菌の組合せにより歯肉炎から歯周炎へ進行していく病原性が生み出されると考えられている。

本研究において、クラスター分析により菌叢の類似性で中学生被験者を分類した結果、歯肉炎群に2つの異なる菌叢パターンが存在することが明らかになり、*motile rods*, *B. intermedius* および *E. corrodens* の全菌数に占める比率に違いが認められた。これらの菌については、歯肉炎群において口腔内指数と正

の相関を示し、炎症の増悪との関連性が示唆された。また、各々の菌叢パターンを有する被験者間には炎症状態の明らかな差が認められなかったことから、*motile rods*, *B. intermedius* および *E. corrodens* が有意に多い菌叢パターンを示した被験者は病態の増悪が示唆される。さらに、この病態の変化が確認されたならば、歯周炎へ移行していく歯肉炎の予測にも役立つものと思われる。

本研究においては、思春期の歯肉炎の優勢菌叢は特異的なものではなく、成人の歯肉炎の菌叢に引き継がれて行く可能性を示唆した。思春期が歯周疾患の初発期と考えられることを考慮すると、この時期こそ集団に対し予防的処置を実行することが有効かつ重要であることを示唆している。また、歯肉炎群において2つの菌叢パターンが存在し、一方の菌叢が以後の病態の増悪を示唆するものであったことから、歯肉炎の進行の危険性が高い被験者のスクリーニングに役立つことも考えられ、



重点的な予防処置が行なえる可能性も推察された。

## 総 括

思春期における歯肉炎の菌叢の特性を明らかにする目的で、中学生を対象として歯肉縁下細菌叢を検索し、成人との同菌叢の比較および臨床状態との関連を検討し、以下の結果を得た。

1. 中学生の歯肉炎の縁下細菌叢はグラム陽性菌が56%を占め、Actinomycesが優勢な菌叢であり、さらにB. intermediusを主体とするグラム陰性嫌気性桿菌が23%認められた。

2. 歯肉縁下プラークから分離同定された菌の合計74%の内、6種類の選択培地の対象菌の占める比率が69%であり、本研究で使われた選択培地の組合せにより菌叢の優勢菌が網羅されることが示された。

3. 中学生と成人の歯肉炎の選択培地を用いた優勢菌叢を比較すると、いずれの培地においても有意差は認められなかった。一方、形態別に分類した細菌において motile rods, spirochetes の全菌数に占める比率が中学生の歯肉炎で有意に低い値を示した。

4. 中学生の歯肉炎群における形態別に分類した細菌ならびに選択培地発育菌の比率と臨床指標との順位相関により、motile rods は GI, PD および BI と、spirochetes は GI, BI および PI と正の相関を示した。また、B. intermedius は BI と、E. corrodens は GI, BI と正の相関を示し、炎症状態との関連が認められた。

5. 中学生被験者全体を対象としたクラスタ分析により、被験者が3つのクラスタ（1, 2 および 3）に分けられ、クラスタ3は全て健康群に属した被験者であり、クラスタ1 および 2 は歯肉炎群に属した被験者で構成されていた。

6. クラスタ1 と 2 の菌叢パターンを比

較すると，クラスター 2 で motile rods, B. intermedius, B. corrodens の比率が有意に多かつた。

以上，思春期の歯肉炎における優勢菌叢は特異的なものではなく，成人の歯肉炎の菌叢に引き継がれていく可能性が示唆された。さらに，歯肉炎群において異なる 2 つの菌叢パターンが存在し，一方の菌叢パターンは以後の病態の増悪を示唆するものであると考えられることから，該当する菌の検索が歯肉炎の進行を予測ないし炎症の進行の危険性が高い被験者のスクリーニングに役立つ可能性も推察された。

## 謝 辞

稿を終わるに臨み，終始御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜りました本学予防歯科学講座岩本義史教授に心より謝意を表しますと

もに、本論文作成に際し御教示、御校閲を賜りました本学口腔細菌学講座杉中秀壽教授ならびに本学歯科保存学第二講座岡本莫教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本研究遂行上、多大なる御支援をいただいた森下真行講師をはじめとする本学予防歯科学講座の各位に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) Parfitt, G. J. (1957): A five year longitudinal study of the gingival condition of a group of children in England. J. Periodontol., 28, 26-32.
- 2) Massler, M., Cohen, A. and Schour, I. (1952): Epidemiology of gingivitis in children. J. Am. Dent. Assoc., 45, 319-324.
- 3) Sutcliffe, P. (1972) : A longitudinal study of gingivitis and puberty. J.

Periodont. Res., 7, 52-58.

- 4) Hugoson, A., Koch, G. and Rylander, H. (1981): Prevalence and distribution of gingivitis-periodontitis in children and adolescents; Epidemiological data as a base for risk group selection. Swed. Dent. J., 5, 91-103.
- 5) 岩本義史, 岩崎妃佐子, 森下真行, 河村誠, 土田和範, 宮城昌治, 青山旬 (1986): 学校における歯周保健に関する研究—中学生の歯周疾患実態調査—. 口腔衛生学会雑誌, 36, 96-102, 昭和61.
- 6) 岡本 莫, 谷川昌生, 小川哲次, 新堀 浩, 中西恵治, 東 富恵, 白川正治 (1987): 広島地区における中学生の歯周疾患罹患状態実態調査 第1報 第一次検診報告. 広歯誌, 19, 261-266. 昭和62.
- 7) Massler, M., Schour, I. and Chopra, B. (1950): Occurrence of gingivitis in suburban Chicago schoolchildren. J. Perio-

dontol., 21, 146-164.

- 8) Marshall-Day, C. D., Stephens, R. G. and Quigley, L. F. (1955): Periodontal disease prevalence and incidence. J. Periodontol., 26, 185-203.
- 9) 青山 旬 (1987): 思春期における歯肉炎に関する研究 — 唾液中の性ホルモンと歯肉状況並びに歯肉縁下細菌との関連性 —. 広大歯誌, 19, 161-173, 昭和62.
- 10) Loe, H., Theilade, E. and Jensen, S. B. (1965): Experimental gingivitis in man. J. Periodontol., 36, 177-187.
- 11) Page, R. C. and Schroeder, H. E. (1976) : Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. Laboratory Investigation, 34, 235-249.
- 12) Theilade, E. (1986) : The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. J. Clin. Periodontol., 13, 905-911.

- 13) Slots, J. (1979): Subgingival microflora and periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 6, 351-382.
- 14) Tanner, A. C. R., Haffer, C., Bratthall, G. T., Visconti, R. A., Socransky, S. S. (1979): A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. J. Clin. Periodontol., 6, 278-307.
- 15) Savitt, E. D. and Socransky, S. S. (1984): Distribution of certain subgingival microbial species in selected periodontal conditions. J. Periodont. Res., 19, 111-123.
- 16) Mandell, R. L. (1984) : A longitudinal microbiological investigation of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Eikenella corrodens in juvenile periodontitis. Infect. Immun., 45, 778-780.
- 17) Kornman, K. S. and Loesche, W. J. (1980) : The subgingival microbial flora dur-

- ing pregnancy. J. Periodont. Res., 15,  
111-122.
- 18) Yotis, W. and Stanke, R. (1966): Bacterio-  
static action of progesterone on Sta-  
phylococci and other microorganisms.  
J. Bacteriol., 92, 1285-1289.
- 19) Kornman, K. S. and Loesche, W. J. (1982) :  
Effect of estradiol and progesterone  
on Bacteroides melaninogenicus and  
Bacteroides gingivalis. Infect. Immun.,  
35, 256-263.
- 20) Løe, H. and Silness, J. (1963): Periodon-  
tal disease in pregnancy. I . Prevalen-  
ce and severity. Acta Odont. Scand.,  
21, 533-551.
- 21) Silness, J. and Løe, H. (1964): Periodon-  
tal disease in pregnancy. II . Correla-  
tion between oral hygiene and perio-  
dental condition. Acta Odont. Scand.,  
22, 121-135.



- 22) Slots, J., Mashimo, P., Levin, M. J. and Genco, R. J. (1979): Periodontal therapy in humans. I. Microbiological and clinical effects of a single course of periodontal scaling and root planing, and of adjunctive tetracycline therapy. J. Periodontol., 50, 495-509.
- 23) Morgenstein, A. A., Citron, D. M. and Finegold, S. M. (1981): New medium selective for Fusobacterium species and differential for Fusobacterium necrophorum. J. Clin. Microbiol., 13, 666-669.
- 24) Mashimo, P. A., Yamamoto, Y., Nakamura, M. and Slots, J. (1983): Selective recovery of oral Campytophaga spp. with sheep blood agar containing Bacitracin and Polymyxin B. J. Clin. Microbiol., 17, 187-191.
- 25) Walker, C., Tanner, A. C. R., Smith, C. and Socransky, S. S. (1978): Selective medium

- for Eikenella corrodens. J. Dent. Res.,  
57, (Special Issue A) 961.
- 26) Zylber, L. J. and Jordan, H. V. (1982) :  
Development of a selective for detec-  
tion and enumeration of Actionomyces  
viscosus and Actionomyces naeslundii  
in dental plaque. J. Clin. Microbiol.,  
15, 253-259.
- 27) Holdeman, L. V., Cato, E. P. and Moore, W.  
E. C. (1977) : Anaerobe laboratory manual,  
4th ed., Virginia Polytechnique Insti-  
tute and State University, Blacksburg  
Virginia, 1-116.
- 28) 上野一恵, 光岡知足, 渡辺邦友 (1982) :  
嫌気性菌の分離と同定法. 菜根出版, 東  
京, 1-116, 昭和 57.
- 29) Krieg, N. R. and Holt, J. G. (1984) : Bergey's  
manual of systematic bacteriology, Vol.  
1, Williams & Wilkins, Baltimore, 38-  
836.

- 30) Sneth, P. H., Mair, N. S., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. (1986) : Bergy's manual of systematic bacteriology, Vol. 2, Williams & Wilkins, Baltimore, 999-1506.
- 31) Listgarten, M. A. and Hellden, L. (1978) : Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. J. Clin. Periodontol., 5, 115-132.
- 32) Listgarten, M. A. and Levine, S. (1981) : Positive correlation between the proportions of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration. J. Clin. Periodontol., 8, 122-138.
- 33) Moore, W. E. C. (1987) : Microbiology of periodontal disease. J. Periodont. Res., 22, 335-341.
- 34) Tanner, A. C. R. and Goodson, J. M. (1986) :

Sampling of microorganisms associated with periodontal disease. Oral Microbiol. Immunol., 1, 15-20.

- 35) Moore, W. E. C., Ranney, R. R. and Holdeman, L. V. (1982): Host-parasite interaction in periodontal disease. (Genco, R. J. and Mergenhagen, S. E. editor). American Society for Microbiology, Washington D. C., 15.
- 36) Greenstein, G. and Polson, A. (1985) : Microscopic monitoring of pathogens associated with periodontal disease. A review. J. Periodontol., 56, 740-747.
- 37) Slots, J., Moenbo, D., Langebaek, J. and Frandsen, A. (1978): Microbiota of gingivitis in man. Scand. J. Dent. Res., 86, 164-181.
- 38) Syed, S. A. and Loesche, W. J. (1978): Bacteriology of human experimental gingivitis; Effect of plaque age. Infect.

Immun., 21, 821-829.

39) Loesche, W. J. and Syed, S. A. (1978): Bacteriology of human experimental gingivitis; Effect of plaque and gingivitis score. Infect. Immun., 21, 821-829.

40) Theilade, E., Wright, W. H., Jensen, S. B. and Løe, H. (1966): Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. J. Periodont. Res., 1, 1-13.

41) Moore, W. E. C., Holdeman, L. V., Smibert, R. M., Good, J. J., Burmeister, J. A., Palcanis, K. G. and Ranney, R. R. (1982) : Bacteriology of experimental gingivitis in young adult humans. Infect. Immun., 38, 651-667.

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

- 43) Moembelli, A., Lang, N. P., Burgin, W. B. and Gusberti, F. A. (1990) : Microbial changes associated with the development of puberty gingivitis. J. Periodont. Res., 25, 331-338.
- 44) Yanover, L. and Ellen, R. P. (1986) : A clinical and microbiologic examination of gingival disease in parapubescent females. J. Periodontol., 58, 562-567.
- 45) Wojcicki, C. J., Harper, D. S. and Robinson, P. J. (1987) : Differences in periodontal disease-associated microorganisms of subgingival plaque in prepubertal, pubertal and postpubertal children. J. Periodontol., 58, 219-223.
- 46) Slots, J. (1982) : Host-parasite interaction in periodontal disease. (Genco, R. J. and Mergenhagen, S. E. editor). American Society for Microbiology, Wash-

ington D. C., 31.

- 47) Slots, J. (1977): The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. Scand. J. Dent. Res., 85, 114-121.
- 48) Tanner, A. C. R., Haffer, C., Bratthall, G. T., Visconti, R. A. and Socransky, S. S. (1979): A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. J. Clin. Periodontol., 6, 278-307.
- 49) Moore, L. V. H., Moore, W. E. C., Cato, E. P., Smibert, R. M., Burmeister, J. A., Best, A. M. and Ranney, R. R. (1987): Bacteriology of human gingivitis. J. Dent. Res., 66, 989-995.
- 50) Armitage, G. C., Dickinson, W. R., Jenderseck, R. S., Levine, S. M. and Chambers, D. W. (1982): Relationship between the percentage of subgingival spirochetes and the severity of periodontal disease. J. Periodontol., 53, 550-556.

- 51) Loesche, W. J., Syed, S. A., Schmidt, E. and Morrison, E. C. (1985): Bacterial profile of subgingival plaque in periodontitis. J. Periodontol., 56, 447-456.
- 52) 岡本 莫, 古谷幸子, 小川哲次, 古堅京子, 小崎正晴, 二宮順二, 東 富恵, 白川正治 (1987): 広島地区における中学生の歯周疾患罹患状態実態調査 第2報 第二次検診報告. 広大歯誌, 19, 267-275, 昭和62年.
- 53) Loesche, W. J., Gusberti, F., Mettraux, G., Higgins, T. and Syed, S. (1983): Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated human periodontal pockets. Infect. Immun., 42, 659-667.
- 54) 常光 旭: 個人予防歯科学, 島田義弘, 改訂版予防歯科学, 第2版, 医歯薬出版, 東京, 1986, 238, 昭和61.
- 55) 宮城昌治, 青山 旬, 森下真行, 岩本義



史 (1988): ヒト多形核白血球の遊走能に  
及ぼす性ホルモンの影響。日齒周誌, 30,  
1033-1039, 昭和62.

表 題 脚 注

\* 広 島 大 学 歯 学 部 予 防 歯 科 学 講 座

主 任 岩 本 義 史 教 授

本 論 文 の 要 旨 は 昭 和 61年 5 月 の 第 29回  
春 季 日 本 歯 周 病 学 会 総 会 , 昭 和 63年 6  
月 の 第 21回 広 島 大 学 歯 学 会 総 会 お よ び  
平 成 元 年 5 月 の 第 32回 春 季 日 本 歯 周 病  
学 会 総 会 に お い て 発 表 し た 。

表1 対象中学校の生徒状況（一次検診）

Grade	Boy	Girl	Total
1 st	231	233	464
2 nd	204	246	450
3 rd	204	205	409
Total	639	684	1,323

鶴田圭伊子

表2 中学生と成人の被験者

	Pubertal children		Young adults	
	Healthy	Gingivitis	Healthy	Gingivitis
Age	12-15	12-15	21-25	22-24
Male	8	12	6	4
Female	5	18	4	4
Total	13	30	10	8

鶴田圭伊子

表 3 選択培地の種類

Microbial group	Selective media
<u>Bacteroides</u> spp.	Kanamycin Vancomycin Blood Agar ( BBL )
<u>Fusobacterium</u> spp.	Vancomycin Neomycin Josamycin Blood Agar <sup>23)</sup>
<u>Capnocytophaga</u> spp.	Polymixin B Bacitracin Blood Agar <sup>24)</sup>
<u>Eikenella corrodens</u>	Clindamycin Blood Agar <sup>25)</sup>
<u>Actinomyces</u> spp.	Cadmium Fluoride Acriflavin Tellurite Blood Agar <sup>26)</sup>
<u>Streptococcus</u> spp.	Mitis-Salivarius Agar ( DIFCO )

表4 中学生と成人の被験歯についての口腔診査結果

	Pubertal children		Young adults	
	Healthy (n=13)	Gingivitis (n=30)	Healthy (n=10)	Gingivitis (n=8)
GI median	0.00±0.00 **	1.50±0.49	0.00±0.00 **	1.25±0.38
PD	1.38±0.35 **	2.16±0.45	1.29±0.15 *	2.12±0.40
BI	0.00±0.00 **	0.33±0.36	0.00±0.00	0.13±0.23
PI	0.33±0.45 **	1.09±0.48	0.30±0.33 *	0.90±0.56

\* P<0.05, \*\* P<0.01(Mann-Whitney's U-test)

Mean±S. D.

表5 選択培地による培養細菌の比率 (中学生)

	Healthy (n=12)	Gingivitis (n=12)
<u>Bacteroides</u> spp.	2.3± 6.5	2.3± 4.2
<u>Fusobacterium</u> spp.	0.7± 1.1	1.7± 2.9*
<u>Capnocytophaga</u> spp.	0.9± 0.7	3.2± 2.9
<u>Eikenella corrodens</u>	0.0± 0.0	0.3± 0.6
<u>Actinomyces</u> spp.	39.6± 41.0*	8.9± 4.2
<u>Streptococcus</u> spp.	21.0± 13.4*	15.2± 20.8

数値は培養全菌数に対する百分率を表す Mean± S. D.

\* P<0.05(Mann-Whitney's U-test)

表6 歯肉縁下細菌叢における分離菌種とその比率 (中学生歯肉炎群)

Subjects	A	B	C	D	E	F	G	H	Mean± S. D.
G (+)cocci	18.0	17.7	2.0	6.0	15.0	14.0	15.0	5.0	11.6± 6.3
<u>Streptococcus</u>	16.0	11.8	2.0	4.0	15.0	2.0	7.5	2.5	7.6± 5.9
<u>saguis</u>	4.0	0	0	2.0	0	0	5.0	2.5	1.7± 2.0
<u>milleri</u>	4.0	11.8	2.0	2.0	15.0	0	2.5	0	4.7± 5.6
mutans streptococci	8.0	0	0	0	0	2.0	0	0	1.3± 2.8
<u>Peptostreptococcus</u>	2.0	5.9	0	0	0	6.0	0	0	1.7± 2.7
<u>micros</u>	2.0	5.9	0	0	0	6.0	0	0	1.7± 2.7
Staphylococci	0	0	0	2.0	0	2.0	0	0	0.5± 0.9
Unidentified	0	0	0	0	0	4.0	7.5	2.5	1.8± 2.8
G (+)rods	26.0	15.7	48.0	66.0	70.0	20.0	62.5	50.0	44.8± 21.5
<u>Actinomyces</u>	24.0	15.7	46.0	64.0	65.0	18.0	62.5	47.5	42.8± 20.9
<u>viscosus</u>	0	2.0	2.0	38.0	5.0	0	0	2.5	6.2± 13.0
<u>naeslundii</u>	8.0	9.8	2.0	8.0	60.0	6.0	2.5	5.0	12.7± 19.3
<u>israelii</u>	16.0	0	42.0	14.0	0	12.0	17.5	30.0	16.4± 14.2
<u>odontolyticus</u>	0	3.9	0	0	0	0	42.5	2.5	6.1± 14.8
<u>meyeri</u>	0	0	0	4.0	0	0	0	7.5	1.4± 2.8
<u>Arachnia</u>	0	0	2.0	0	0	0	0	0	0.3± 0.7
<u>propionica</u>	0	0	2.0	0	0	0	0	0	0.3± 0.7
<u>Eubacterium</u>	0	0	0	0	2.5	0	0	0	0.3± 0.9
<u>saburreum</u>	0	0	0	0	2.5	0	0	0	0.3± 0.9
<u>Clostridium</u>	0	0	0	0	0	2.0	0	0	0.3± 0.7
Unidentified	2.0	0	0	2.0	2.5	0	0	2.5	1.1± 1.2
G (-)Anaerobic cocci	0	0	0	2.0	0	0	0	0	0.3± 0.7
<u>Veillonella</u>	0	0	0	2.0	0	0	0	0	0.3± 0.7
<u>parvula</u>	0	0	0	2.0	0	0	0	0	0.3± 0.7
Unidentified	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0± 0.0
G (-)Facultatively anaerobic rods	10.0	9.8	18.0	10.0	5.0	28.0	0	12.5	11.7± 8.4
<u>Capnocytophaga</u>	4.0	0	8.0	2.0	2.5	16.0	0	10.0	5.3± 5.6
<u>ochracea</u>	2.0	0	6.0	0	0	14.0	0	10.0	4.0± 5.5
<u>gingivalis</u>	2.0	0	2.0	0	2.5	2.0	0	0	1.1± 1.1
<u>sputigena</u>	0	0	0	2.0	0	0	0	0	0.3± 0.7
<u>Eikenella</u>	0	5.9	0	0	0	2.0	0	0	1.0± 2.1
<u>corrodens</u>	0	5.9	0	0	0	2.0	0	0	1.0± 2.1
Unidentified	6.0	3.9	10.0	8.0	2.5	10.0	0	2.5	5.4± 3.7
G (-)Anaerobic rods	44.0	39.3	26.0	8.0	10.0	22.0	20.0	12.5	22.7± 13.3
<u>Bacteroides</u>	16.0	13.7	10.0	0	5.0	20.0	10.0	2.5	9.7± 6.9
<u>intermedius</u>	16.0	13.7	10.0	0	5.0	20.0	10.0	2.5	9.7± 6.9
<u>Fusobacterium</u>	6.0	2.0	2.0	6.0	2.5	0	2.5	0	2.6± 2.3
<u>nucleatum</u>	6.0	2.0	2.0	6.0	2.5	0	2.5	0	2.6± 2.3
<u>Selenomonas</u>	2.0	2.0	2.0	0	2.5	0	0	2.5	1.4± 1.2
<u>sputigena</u>	2.0	2.0	2.0	0	2.5	0	0	2.5	1.4± 1.2
Unidentified	20.0	21.6	12.0	2.0	0	2.0	7.5	7.5	9.1± 8.2
Did not survive	2.0	17.6	6.0	8.0	0	16.0	2.5	20.0	9.0± 7.8

数値は各被験者の総分離コロニー数に対する百分率を表す



表 7 非選択培地と選択培地における培養結果の比較

	Blood agar medium (n=8)	Selective medium (n=8)
<u>Bacteroides</u> spp.	9.7± 6.9	9.0± 8.9
<u>Fusobacterium</u> spp.	2.6± 2.3	2.3± 3.1
<u>Capnocytophaga</u> spp.	5.3± 5.6 *	1.0± 1.1
<u>Eikenella</u> <u>corrodens</u>	1.0± 2.1	0.4± 0.5
<u>Actinomyces</u> spp.	42.8± 20.9 **	11.9± 16.4
<u>Streptococcus</u> spp.	7.6± 5.9 *	28.0± 32.0

数値は培養全菌数に対する百分率を表す Mean± S. D.

\* P<0.05, \*\* P<0.01 (Wilcoxon's signed rank test)

表8 形態別に分類した細菌の比率 (中学生および成人)

	Pubertal children		Young adults	
	Healthy (n=13)	Gingivitis (n=30)	Healthy (n=10)	Gingivitis (n=8)
Cocoid cells	20.8±7.4	23.0±9.1	50.3±11.9*, #	25.9±9.6
Motile rods	0.2±0.6	3.3±2.9**	0.3±0.6	7.0±3.1*, #
Spirochetes	0.5±1.1	6.2±10.3**	0.1±0.2	12.4±13.2*, #
Others	78.5±7.7*, #	67.0±11.3#	49.9±10.7	54.0±11.1

数値は全菌数に対する百分率を表す

Mean±S. D.

\* 健康群と歯肉炎群との比較

# 中学生と成人との比較

#, \*P<0.05, \*\* P<0.01 (Mann-Whitney's U-test)

表9 選択培地による培養細菌の比率 (中学生および成人)

	Pubertal children		Young adults	
	Healthy (n=13)	Gingivitis (n=30)	Healthy (n=10)	Gingivitis (n=8)
<i>Bacteroides</i> spp.	2.1± 6.3	4.1± 6.1**	0.2± 0.7	1.1± 1.4*
<i>B. intermedius</i> <sup>1)</sup>	1.1± 3.3	3.5± 5.3*	0.0± 0.03	0.7± 0.8*
<i>B. melaninogenicus</i> <sup>1)</sup>	0.5± 1.6	0.1± 0.3	0.0± 0.03	0.1± 0.2
<i>B. loescheii</i> <sup>1)</sup>	0.6± 1.7	0.7± 2.7	0.2± 0.7	0.3± 0.9
<i>B. denticola</i> <sup>1)</sup>	0.1± 0.3	0.0± 0.1	0.0± 0.0	0.0± 0.0
<i>Fusobacterium</i> spp.	0.7± 1.0	3.0± 4.2**	1.1± 2.0	3.0± 3.8
<i>Capnocytophaga</i> spp.	0.9± 0.7	2.5± 3.4	1.3± 2.3	2.0± 2.2
<i>Eikenella corrodens</i>	0.0± 0.0	0.2± 0.5	0.2± 0.5	0.2± 0.4
<i>Actinomyces</i> spp.	38.1± 39.7**	10.7± 12.8	22.3± 22.2*	5.5± 6.5
<i>Streptococcus</i> spp.	21.1± 12.8	19.7± 24.0	34.0± 33.0	7.4± 6.9

数値は培養全菌数に対する百分率を表す

Mean± S. D.

\* 健康群と歯肉炎群との比較

\*P<0.05, \*\* P<0.01 (Mann-Whitney's U-test)

1) 中学生健康群のみ n=12

表10 菌の比率と口腔内指数との相関 (中学生歯肉炎群)

	Gi	median	PD	BI	PI
Coccoid cells (%)	-0.24		-0.12	0.11	-0.25
Motile rods (%)	0.43 *		0.50 **	0.52 **	0.28
Spirochetes (%)	0.43 *		0.24	0.37 *	0.45 *
<u>B. intermedius</u> (%)	0.07		0.23	0.40 *	0.12
<u>Fusobacterium</u> spp (%)	-0.24		-0.04	0.02	-0.13
<u>Capnocytophaga</u> spp (%)	0.00		-0.40 *	-0.31 *	-0.22
<u>E. corrodens</u> (%)	0.33 *		0.27	0.31 *	-0.20
<u>Actinomyces</u> spp (%)	0.00		-0.46 **	-0.15	-0.01
<u>Streptococcus</u> spp (%)	-0.05		-0.25	-0.24	-0.33 *

\* P<0.05, \*\* P<0.01  
(Spearman's rank correlation)

(n=30)

表11 各クラスターにおける菌叢パターンの特徴

	Cluster 3 (n=11)		Cluster 1 (n=16)		Cluster 2 (n=8)	
Coccioid cells	19.6± 6.8		19.6± 5.8		26.7± 6.7	
Motile rods	0.2± 0.6	↔	2.5± 2.6	↔	6.4± 1.9	*
Spirochetes	0.6± 1.1	↔	6.1± 8.2		4.8± 6.5	*
<u>B. intermedius</u>	0.1± 0.3	↔	1.2± 1.9	↔	10.2± 6.1	
<u>Fusobacterium</u> spp	0.5± 0.7	↔	3.1± 4.0		1.3± 1.2	*
<u>Capnocytophaga</u> spp	1.0± 0.7		1.9± 1.8		1.1± 1.0	
<u>E. corrodens</u>	0 ± 0		0.1± 0.3	↔	0.5± 0.5	*
<u>Actinomyces</u> spp	42.9± 41.3	↔	8.3± 4.2		6.1± 4.8	*
<u>Streptococcus</u> spp	20.4± 13.9		16.7± 23.6		16.2± 13.1	
GI median	0 ± 0	↔	1.5± 0.6		1.5± 0.3	*
PD	1.4± 0.4	↔	2.1± 0.5		2.4± 0.3	*
BI	0 ± 0		0.3± 0.4		0.6± 0.3	*
PI	0.3± 0.5	↔	1.3± 0.5		1.0± 0.3	*

細菌の数値は全菌数に対する百分率を表す

Mean± S. D.

↔ 2群間で有意差が認められたもの (P<0.05)

\* Cluster 3 と Cluster 2 で有意差が認められたもの (P<0.05)  
(Mann-Whitney's U-test)

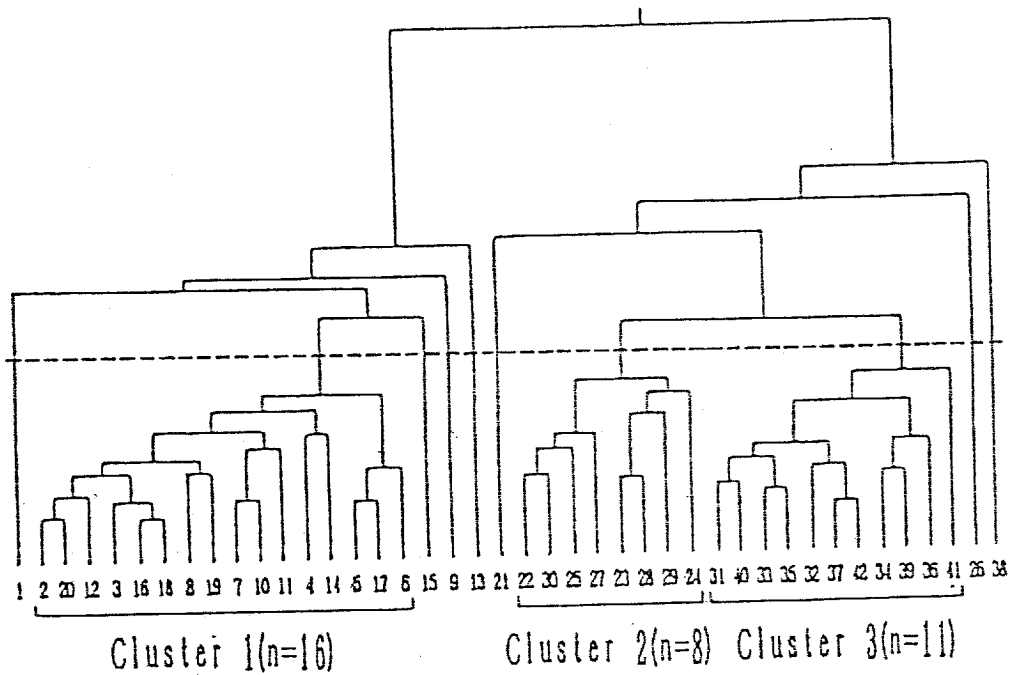


図1 中学生被験者のクラスター分析における樹形図

横軸の番号は各被験者を表す。被験者間を結ぶ線の高さは被験者相互の類似度を示し、短い程類似していることを表す。  
 分析方法はGower similarity coefficientと average unweighted linkage sortを用いた。