歯科領域における歯周病治療の進歩と臨床検査

ーリアルタイム PCR 検査による歯周病関連菌種の測定についてー

◎林田 栄二¹⁾、宮嵜 由美子¹⁾、生田 図南²⁾ 株式会社 Microexam¹⁾、生田歯科医院²⁾

【はじめに】ギネスブックに「世界で最も蔓延している感染症」として認定されている歯周病。最新の研究では認知症など全身の疾病に深く関与していることが明らかになっている。また、厚生労働省の調査によると、歯周病治療すなわち口腔内環境の改善は、医療費抑制の効果も示され超高齢化社会に向けた最重要課題の1つに挙げられる。歯周病治療については近年、「歯周内科治療」という新しい考え方の治療方法が開発された。基本検査に加え「位相差顕微鏡検査」や「細菌 PCR 検査」を実施し、歯周病原因菌の種類や状態を細密に調べ「内服薬」で原因菌を除去する治療法である。今回、PCR 検査において Intercalator 法に比べ、特異性が高く TAT 短縮効果が期待できる蛍光プローブを用いた「TaqMan 法」により歯周病の原因菌を対象とした『3 菌種同時定量法』を開発し検討したので報告する。

【対象及び方法】国際歯周内科学研究会より研究目的で集められた 99 検体を用いて Intercalator 法と TaqMan 法を比較した。測定装置: Roter-GeneQ MDx 5Plex HRM・分注装置: QIAgility を使用。測定菌種は・P.g 菌・T.d 菌・T.f 菌

と A.a 菌・F.n 菌・P.i 菌の 6 菌種。各 gDNA に対するプライマーとプローブ (3 色素) を Target から設計した。検討の抽出サンプル (gDNA) は原液及び 8 倍希釈を使用した。

【結果】歯周病に関連性が深く『Red Complex』と呼ばれる P.g、T.d、T.f の 3 菌種各々に対するプライマーとプローブ を適切な濃度で混合、鋳型 gDNA を添加後、リアルタイム PCR 測定を行った。その結果、3 菌種全てにおいて精度・ 反応効率共に高い検量線が得られた。A.a、F.n、P.i の 3 菌種においても同様の結果が得られた。従来の Intercalator 法 との比較は良好であった。

【考察】今回開発した P.g ・ T.d ・ T.f の Red Complex 3種及び A.a ・ F.n ・ P.i の「同時定量法」について検討した。その結果、特異性の変化による乖離検体が一部見られたが概ね一致していると考えられた。また、現行処方同様 1 検体につき 2 測定(原液と 8 倍希釈)を行う事で問題なく定量値を得ることができ有用であると考えられた。今後、歯科領域において臨床検査の役割が拡充していくことが期待される。 連絡先 0969-76-0290