



ATPの検出を利用した口腔内の衛生状態の判定に関する研究(第1報):
唾液のATPふき取り法からみた歯磨き前後の日内変動の比較検討

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 福島県立医科大学看護学部 公開日: 2014-06-11 キーワード (Ja): 唾液のATP値, ATPふき取り法, 口腔ケア, 口腔内の衛生状態 キーワード (En): salivary ATP values, ATP swab test, oral care, oral hygiene 作成者: 三浦, 浅子, 本多, たかし メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000556

ATP の検出を利用した口腔内の衛生状態の判定に関する研究 (第1報)

— 唾液の ATP ふき取り法からみた歯磨き前後の日内変動の比較検討 —

The Assessment of Oral Hygiene with the ATP Detection Test: A Comparative Study of Tooth Brushing-Related Diurnal Variation Using the Salivary ATP Swab Test

三浦 浅子¹ 本多たかし²
Asako MIURA¹ and Takashi HONDA²

キーワード：唾液の ATP 値, ATP ふき取り法, 口腔ケア, 口腔内の衛生状態

Key Word : salivary ATP values, ATP swab test, oral care, oral hygiene

Abstract

Visual observation as an assessment of oral hygiene lacks objectivity. This study aims at determining the validity of performing the ATP values of saliva in the oral cavity. With 14 samples taken from 10 healthy volunteers we analyzed how diurnal variation of salivary ATP values is affected by tooth brushing upon rising, after breakfast, lunch, and dinner, and before retiring. Low upon rising in the morning and prior to tooth brushing, salivary ATP values rose after each tooth brushing, although the hike was not statistically significant. Between the ATP values subsequent to tooth brushing before retirement and those values upon rising the next morning was a significant difference ($p < 0.05$). Releasing dental plaque, tooth brushing seems to increase ATP values. We also observed that plaque and food debris may sometimes withstand rinsing and stay in the mouth. We found salivary ATP values fluctuate hourly after each meal of the day. This study suggests that the salivary ATP swab test, which is sensitive to both normal bacterial flora and food debris in the oral cavity, provides a simple and valid method to objectify oral hygiene.

要 旨

本研究の目的は、口腔内の衛生状態の判定として目視確認による清潔判定には客観性が乏しいと考えたので、口腔内の唾液の ATP 値測定の有効性について明らかにすることである。健康者10名で14件について、起床時、朝食・昼食・夕食後、就寝前の歯磨きによる唾液の ATP 値の日内変動を分析した。今回の結果では、唾液の ATP 値は起床時と歯磨き前は低く、歯磨き後は高かったが有意差は認められなかった。しかし、就寝前歯磨き後と翌朝起床時の唾液の ATP 値には有意差 ($p < 0.05$) が認められた。歯磨きによって歯垢面のプラークが吐き出され ATP 値を高くしていること、うがいの仕方によって食物残渣やプラークが残留していることが考えられた。これらは、唾液に含まれる ATP 値が1日を通して食事の前後で継時的に変化することを示しており、唾液の ATP 値ふき取り法は、口腔内の常在菌と食物残渣の両方を測定することができ、口腔内の衛生状態を客観化する簡便な方法として有効であることを示唆した。

1 福島県立医科大学看護学部療養支援看護学部 Department of Clinical Nursing, Fukushima Medical University School of Nursing

2 福島県立医科大学看護学部生命科学部門 Department of Human Life Sciences, Fukushima Medical University School of Nursing

受付日：2013年9月27日 受理日：2014年1月9日

I. 序 論

がん化学療法や放射線療法を受ける患者の有害事象として口腔粘膜障害（以下口内炎）の発症が40%¹⁾であり、重篤になると食欲低下や痛みを伴い患者のQOL低下や治療継続に影響を与えることが知られている^{2) 3)}。平成21年の厚生労働省の「重篤副作用疾患別対応マニュアル抗がん剤による口内炎」では口腔ケアが推奨され、その定義として「口腔ケアは、口腔のあらゆる働き（摂食、咀嚼、嚥下、構音、唾液分泌）を健全に維持する口腔衛生管理に主眼をおく一連の口腔清掃であり、微生物からの感染予防行なうものである。」と述べている⁴⁾。近年、がん化学療法の著しい進歩によって、がん化学療法を専門的に行なう外来や病棟が設立され、口腔衛生管理を行なう環境は整ってきており、がん化学療法を受ける患者の口内炎の予防対策の研究も行われている^{3) 5) 6) 7)}。

口腔内には約500種類、100億の常在菌が生息^{8) 9)}し、化学療法を行っているがん患者では、好中球減少などの骨髓抑制によって口腔内常在菌を起炎菌とする日和見感染症を発症しやすい^{1) 2)}ことから、がん化学療法等の治療前中後の口腔内のアセスメントが重要である¹⁰⁾。この問題に対し、現在のところ看護師は口腔の状態を目視で観察し、口腔アセスメントガイド（EilersのOGA：Oral Assessment Guide）¹¹⁾や有害事象共通用語基準のグレード評価¹²⁾をもとに、口内炎の発生状況をアセスメントしているが、目視観察のみでは、口腔の衛生状態の判定には客観性が乏しいと考える。

従来、口腔ケアの指標として、ブラッシング（歯磨き）やうがい等の前後に歯垢や唾液の一般細菌の培養検査^{13) 16)}、歯頸部に付着した歯垢染色法（Plaque Control Record：PCR法）⁵⁾が行なわれているが、判定まで時間を要すること、簡便な方法ではないこと、歯科口腔外科の関与が必要なこと等いくつかの問題がある。また、周術期合併症発症予防、呼吸器装着患者の呼吸器感染症予防¹⁷⁾、高齢者や認知症患者のQOLを高めるためにも口腔ケアの意義が見直され^{18) 19) 20)}、診療報酬²¹⁾にも反映されるようになってきている。このような背景の中で、口腔ケアの技術的な方法は開発されてはいるが、口腔ケア後の衛生状態（口腔内の清浄度）を簡便に判断できる客観的指標は少ないといえる。

近年、ATP（Adenosine-Triphosphate；アデノシン三リン酸）の簡便な検出法（ATPふき取り検査法）が開発され²²⁾、医療機器の洗浄後の汚染や手指消毒の効果等の判定に活用されている^{23) 24) 25)}。ATPは、あらゆる生物がもつエネルギー代謝に必須の物質であり、微生物、食物

残渣などに広く存在し汚れの指標に最適といわれている。この方法は、わが国でも院内感染対策において洗浄後の医療機器等に残っている血液、消化液、唾液、微生物等、残留汚染の判定に利用されている。内視鏡の洗浄法を検討した研究では、内視鏡洗浄前後のATP値を測定することで、残留した胃液などの消化液や唾液の残留を確認し清浄度を判定できると述べている²³⁾。また、アメリカでは、歯科領域で口腔衛生のための定量的な評価方法として、口腔内の歯垢及び唾液の細菌検出とATP値の統計的評価を行い、信頼係数が0.8以上であり口腔衛生状態の評価ツールとしての可能性を証明し、小児の虫歯予防に活用されている²⁶⁾。

わが国の口腔ケアの衛生状態の評価として、客観的な指標は細菌培養検査であるが、簡便な方法ではなくリアルタイムでの指標とはならない。医中誌で（原著論文、会議録を除く）、キーワードを口腔ケア、細菌検査とすると58件あったが、口腔ケア、ATPふき取り法の検索は0だったので、今回、唾液のATP値を調べることは意義深いことである。

今回、先行研究²⁶⁾で歯垢と唾液の細菌検出とATPふき取り法の相関が強いことを鑑みて、健常者の一般的な歯磨き前後に唾液のATP値の日内変動を調べたところ、口腔内の清浄度の判定の可能性を示唆したので報告する。

II. 目 的

本研究の目的は、唾液のATP値測定が口腔内清浄度の客観化に有効であることを証明し、さらにこの結果をもとに、歯磨き前後の口腔内清潔判定を行うことである。唾液採取は人体にとっては侵襲性の低い方法であり、臨床での活用の是非について検討できると考えた。

III. 方 法

1. 対象の選定及び期間

1) 対象の設定

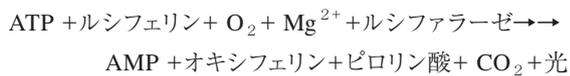
本研究の最終目標は、がん化学療法等を受ける患者の口内炎予防対策の客観的指標を検討することである。臨床でがん化学療法を受ける患者の研究を行なう前に、健康な成人を対象に通常の日常生活での口腔清掃（歯磨き）前後の唾液のATPふき取り法を行なった。対象者は、福島県立医科大学看護学部の教員で研究に同意した10名を被験者とした。

2) 期間：2010年7月～2012年3月

2. ATP 測定理論

ATP は、あらゆる生物がもつエネルギー代謝に必要な物質であり、微生物や生物に由来する汚れ（食品残渣、生体成分など）に含まれている。また、AMP (Adenosine-monophosphate；アデノシリン酸) は、加熱や発酵、酵素反応により ATP が変化した物質である。ATP ふき取り法は、ATP サイクリング法の原理を利用したものである。この測定は、ホテル腹部の発光器の中で起きている酵素反応を利用している。ATP は、ルシフェリンと酸素の下で、ルシフェラーゼ（酵素）と反応させることで AMP に変化し、その際、光エネルギーが放出される。ATP 量が多いほど発光量 (Relative Light Unit; RLU) が増加する^{22) 26)}。すなわち、ATP 拭き取り法では、測定値 (発光量: RLU) が大きいほど ATP 値が高く、汚れが多い (清浄度が低い) と判断される。

ATP 測定の理論^{22) 26)}



今回、キッコーマン株式会社が開発した「ルシパック Pen²⁷⁾ と ATP 測定器ルミテスター PD20²²⁾」を使用した

(図1)。「ルミテスター PD20」²²⁾ は、ATP が加熱・変形した AMP も測定でき、より精密な測定が可能である。「ルシパック Pen」で検体をふき取り、ルシパック Pen の測定キット内の試薬と検体を交合した後に、その蛍光量を測定することで検体の ATP 濃度を計測している。この反応で ATP は AMP と遊離のリン酸基に分かれるが、ルシパック Pen の測定キットには、ATP 再生酵素である PPDK (pyruvate orthophosphate dikinase；ピルベートオルトホスフェートジキナーゼ) が添加されており、この酵素の働きで試料中に存在する AMP を ATP に変換しているので、より高感度な測定ができるといわれている。したがって、ATP 測定の理論の根拠により正確に食物残渣や微生物による汚染を判定できる。

ATP サイクリング法²²⁾

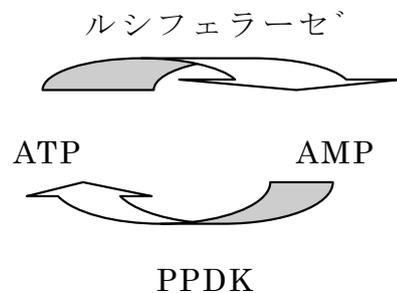


図1 ATP 測定法 (ルシパック Pen・ルミテスター PD20)
〈キッコーマンバイオケミファ株式会社提供〉

3. 唾液のATP値を測定する意義

唾液の機能としては、消化作用、粘膜保護作用、自浄作用などがある。また、唾液は口腔内の細菌の生育を補助する役割と阻害する役割の相反する機能を持っている。口腔内に入り込んだ細菌は、歯面、歯肉溝、舌面、頬粘膜、咽頭などに定着する細菌で、歯面にはデンタルプラークやバイオフィルムとして細菌巣を形成している^{8) 28)}。従って、今回調査する検体の唾液には、唾液成分のATP、食物残渣のATP、口腔内の常在菌のATPが存在しており、歯磨き後のATP値が歯磨き前より低くなると、唾液内の食物残渣や微生物が少なくなっていることを示し、口腔内の清浄度が判定できると考える。また、唾液の採取は身体的な侵襲がない方法であり、医療施設や在宅ケアを行なっている看護師が判定することや患者自身がセルフチェックすることも可能な方法と考えられる。

4. 調査方法

1) 被験者の歯磨きの特性の調査

年齢的な特徴、歯磨き習慣、齲歯（治療の有無）、口腔内乾燥、口臭、舌の状態を個人調査用紙に記入してもらった。

2) 唾液のATPふき取り検査

唾液のふき取り方法は、清潔な容器（直径3cm深さ1cmのふたつき容器30個が袋内に梱包され開放前は滅菌が保たれており、開封後はふたを開けなければ清潔が保たれている）に唾液を吐き出し、専用の綿棒（ルシパックPen）で唾液をまんべんなくふき取り、キットに含まれる専用の試験管内で綿棒に付着した唾液とATP抽出試薬と混合した後、ルミテスターPD-20で発色した蛍光量を測定した。測定時間は10秒であった。ルシパックPenは冷所（2～8℃）保存が必要なため、クーラーボックスに入れて自宅に持参し、帰宅後に冷蔵庫保存とした。ルシパックPenは冷所から取り出した直後ではATP抽出試薬と混合に不具合が生じ、ATP値測定に誤差が認められる可能性があるため、約30分前に取り出すことを統一した。

3) 日内変動測定

被験者には、休日・祝日（1日もしくは2日間）の日内変動測定を依頼した。普段通りに生活をしてもらい、通常の歯磨き行動をとってもらった。1982年のNolteの

口腔内細菌の日内変動調査では、起床直後が最も菌数が多く、ブラッシングと朝食により激減し、昼食・夕食後は高く、食後のブラッシング後は、朝食後の細菌数位まで低下している²⁸⁾。この方法に就寝前の歯磨き前後を加え、早朝起床時、朝食後歯磨き後、昼食後歯磨き前後、夕食後歯磨き前後、就寝前歯磨き前後、翌朝起床時の9回の日内変動を調べた。早朝起床時は口腔内が乾燥し唾液の分泌が少ないと考えられたので、滅菌蒸留水50mlでうがい後の測定を統一した。従って、厳密には早朝起床時水洗後となる。

5. 分析方法

早朝起床時水洗後、朝食後歯磨き後、昼食後歯磨き前後、夕食後歯磨き前後、就寝前歯磨き前後、翌朝起床時に測定された唾液のATP値の平均値の比較を行なった。検定は、SPSS17を用いて、一般線形モデルの多変量検定のMauchlyの球面性検定を行なった。また、朝起床時、朝食後歯磨き後、昼食後歯磨き前後、夕食後歯磨き前後、就寝前歯磨き前後、翌朝起床時の直近での唾液のATP値の差についてt検定を行なった。さらに、早朝起床時水洗後の唾液のATP値を基準として、朝食後歯磨き後、昼食後歯磨き前後、夕食後歯磨き前後、就寝前歯磨き前後、翌朝起床時水洗後の比率を調べ、比率の平均値、標準偏差、最小値、最大値を95%の信頼区間で比較した。

6. 倫理的配慮

研究協力者には、研究の概要、調査方法、研究への参加、辞退は自由であることを文書と口頭で説明し、文書にて承諾書を得た。本研究は、福島県立医科大学の研究倫理審査の承認を得た。

IV. 結 果

1. 協力者の特徴

10人、16件の協力が得られた。内訳として、女性9名、男性1名、平均年齢39.9歳、標準偏差12.2であった。歯磨き習慣として、起床時20%、朝食後100%、昼食後90%、夕食後70%、就寝前50%だった。各食後の歯磨き習慣はあるが、起床時（食事前）と就寝前の歯磨き習慣が少ない傾向が認められた。歯磨き法は、練り歯磨き使用100%、洗浄液使用10%、うがい薬剤使用0%であり、

表1 口腔の状態、齲歯、乾燥、口臭、舌の状態

齲歯	治療中	未治療	乾燥	口臭	舌ピンク	舌白い	舌黄色
70%	30%	40%	50%	40%	70%	30%	0

口腔洗浄液や薬用含漱剤の使用習慣は乏しかった。

口腔の状態、齲歯、乾燥、口臭、舌の状態を表1に示した。齲歯は70%自覚しているが、治療は半数だった。乾燥、口臭は、40~50%が気にしていた。

2. 1日の生活における唾液のATP値の変動

表2には、16件の1日9回の唾液のATP値を示した。図2には、唾液のATP平均値の推移を示した。唾液のATP値の平均値は、起床時 1.16×10^5 RUL、朝食歯磨き後 2.30×10^5 RUL、昼食歯磨き前 1.61×10^5 RUL、昼食歯

磨き後 2.37×10^5 RUL、夕食歯磨き前 2.54×10^5 RUL、夕食歯磨き後 2.55×10^5 RUL、就寝前歯磨き前 1.98×10^5 RUL、就寝前歯磨き後 2.69×10^5 RUL、翌朝起床時 1.53×10^5 RULだった。特徴として、唾液のATP値は、早朝起床時水洗後は低いこと、歯磨き前より歯磨き後が高値だった。

3. ATP値の日内変動の比較検討

Mauchlyの球面性検定のGreenhouse-Geisserは、自由度2.580、F値1.906、P値0.152を示し、9回の日内変動

表2 早朝、各食事の歯磨き前後、就寝前の唾液のATP値 (単位 $\times 10^5$ RUL)

NO	起床時	朝食歯磨き後	昼食歯磨き前	昼食歯磨き後	夕食歯磨き前	夕食歯磨き後	就寝前歯磨き前	就寝前歯磨き後	翌朝起床時
1	0.37	7.78	1.08	6.05	1.01	4.08	3.45	6.75	2.41
2	2.41	6.11	1.10	3.53	1.25	3.12	3.17	6.60	1.84
3	1.14	5.59	2.15	2.49	2.31	5.30	1.20	4.90	4.06
4	0.60	4.99	1.09	3.08	0.07	3.50	1.15	0.68	0.76
5	0.76	1.59	1.08	2.38	0.07	4.31	0.58	5.25	0.25
6	0.82	0.84	1.45	3.72	5.97	1.36	0.90	1.60	0.66
7	2.40	1.40	5.04	3.51	7.58	3.73	6.67	4.29	3.71
8	1.49	0.43	2.33	1.29	0.35	1.10	0.59	0.45	0.84
9	1.69	1.73	0.52	1.46	1.67	1.27	1.34	0.74	1.17
10	1.17	0.59	1.87	0.76	3.62	1.74	1.18	1.50	1.91
11	2.32	1.75	1.03	1.78	0.68	2.81	0.73	0.68	0.71
12	0.71	0.42	0.53	1.56	9.73	1.78	3.30	1.15	2.01
13	0.24	0.69	0.21	1.00	0.23	1.49	2.91	1.12	0.21
14	0.21	0.80	2.34	2.22	1.00	2.08	1.21	2.49	0.67
15	0.39	0.98	0.33	0.59	1.09	2.45	1.87	2.50	0.71
16	1.79	1.08	3.58	2.55	4.07	0.62	1.43	2.34	2.50
平均値	1.16	2.30	1.61	2.37	2.54	2.55	1.98	2.69	1.53
標準偏差	0.77	2.38	1.28	1.39	2.92	1.35	1.59	2.16	1.18
最大値	2.41	7.78	5.04	6.05	9.73	5.30	6.67	6.75	4.06
最小値	0.21	0.42	0.21	0.59	0.07	0.62	0.58	0.45	0.21

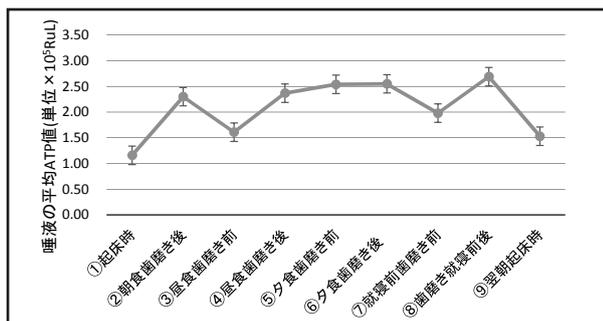


図2 唾液のATP値(平均値)の日内変動

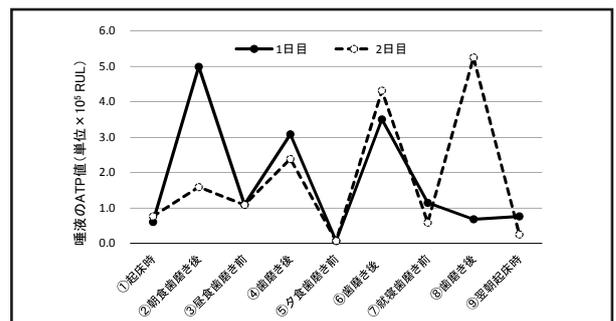


図3 同一者の2日間の日内変動

でみた唾液の ATP 値の比較では有意差は認められなかった。図3の個別のグラフでは、歯磨き前後に差がある傾向があったので、9回の直近の差を求め t 検定を行った。その結果、就寝後歯磨き後と翌朝起床時水洗後には有意差 ($p < 0.05$) が認められた (表3)。

早朝起床時水洗後の ATP 値を基準にして、各歯磨き後の ATP 値の比率を求めた。ATP 値 < 1 であれば早朝起床時水洗後より唾液の汚染が少ない状態であり、ATP 値 > 1 であれば早朝起床時水洗後より唾液の汚染が多いことを示すことになる。95%の信頼区間にすべての平均値があった。平均値が低いのは翌朝起床時水洗後1.75倍、昼食後の1.98倍、高いのは就寝歯磨き後4.06倍、昼食歯磨き後3.56倍、最小値の幅は朝食歯磨き後0.29倍～夕食後0.89倍だったが、最大値の幅が翌朝起床時水洗後6.44

～就寝歯磨き後18.04であった。(表4)

4. 個別的な傾向

表1の16件の日内変動では、NO 7, NO 8は、歯磨き後すべての ATP 値が低くなっていた。NO10, NO12, NO16は、歯磨き後3回 (75%) の ATP 値が低くなっていた。図3は、同一者の連続2日間の日内変動である。唾液の ATP 値は、磨き後に高い傾向を示していた。歯磨きの習慣は、市販の練り歯磨きでブラッシング、水道水でうがいをし、その後市販のうがい剤でうがいをしていた。被験者の判断で、1日目はうがい剤を使用し、2日目はうがい剤を使用していなかった。このように、16ケースを個別に日内変動をグラフに表示し比較検討を行った結果、個別的な傾向を知ることができた。例え

表3 早朝、各食事、就寝前の歯磨き前後の唾液の ATP 値の t 検定

n = 16 自由度15		
比較サンプル	t 値	P 値
起床時 - 朝食後歯磨き後	-1.846	0.850
朝食歯磨き後 - 昼食後歯磨き前	0.976	0.344
昼食後歯磨き前 - 昼食歯磨き後	-1.852	0.084
昼食歯磨き後 - 夕食後歯磨き前	-0.216	0.832
夕食後歯磨き前 - 夕食歯磨き後	-0.004	0.997
夕食歯磨き後 - 就寝歯磨き前	1.222	0.241
就寝歯磨き前 - 就寝歯磨き後	-1.334	0.202
就寝歯磨き後 - 翌朝起床時	2.423	0.029*

* $p < 0.05$

表4 早朝起床時と各歯磨き前後の ATP 値の比率

	n	平均値	標準偏差	最小値	最大値	95%信頼区間	
						下限	上限
朝食後歯磨き後/早朝起床時	16	3.32	5.11	0.29	20.8	0.60	6.05
昼食後/早朝起床時	16	1.98	2.50	0.31	10.97	0.64	3.31
昼食歯磨き後/早朝起床時	16	3.56	4.18	0.66	16.16	1.34	5.79
夕食後/早朝起床時	16	2.81	3.51	0.89	13.78	0.94	4.68
夕食歯磨き後/早朝起床時	16	3.81	3.34	0.34	10.92	2.03	5.59
就寝歯磨き前/早朝起床時	16	3.06	3.48	0.31	12.27	1.20	4.91
就寝歯磨き後/早朝起床時	16	4.06	4.84	0.29	18.04	1.48	6.64
翌朝起床時/早朝起床時	16	1.75	1.60	0.31	6.44	0.90	2.60

ば、早朝低く歯磨き後に高くなるタイプ、早朝低く夕食後から高くなるタイプ、早朝高く歯磨き後に低くなるタイプ、早朝高くその値が継続するタイプ等であった。

V. 考 察

1. 歯磨き習慣

歯磨き習慣として、朝食後は100%、昼食後は90%、夕食後70%、就寝前が50%、起床時20%だった。日本人成人394人の歯科検診受診と口腔健康状態の調査では、1日歯磨き回数が1回24.4%、2回56.3%、3回以上19%だった²⁹⁾。これと比べると3回以上の歯磨き習慣はあるが、起床時（食事前）と就寝前の歯磨き習慣が少ない傾向が認められた。このことは、起床時は朝食後に、夕食後の間食がなければ1回とするという習慣もあると考えられた。また、歯磨き後のATP値が4回とも低い人が2人、3回低い人が3人いたということは、歯磨きやうがいの仕方には個人的な特徴があることが窺える。口腔内の歯垢やバイオフィルムの形成を考えると、一般的に起床時の細菌数が多い^{8) 9) 28)}ので、高齢者や免疫の低い人は、唾液に含まれている微生物を飲み込むことで肺炎のリスクも高く、就寝前と起床時の歯磨きの励行が重要である。今回、起床時水洗後のATP値が低かったので、起床時にぶくぶくうがい等の習慣を身につける意義³⁰⁾の裏づけにもなったと考える。

2. 唾液のATP値の日内変動

口腔には非常に多くの種類の微生物が常在している。唾液の常在菌叢では、唾液1mlあたり 10^8 個の細菌が検出されるが、一定ではなく1日の生活の中で増減を繰り返している^{8) 9)}。1982年のNolteの口腔内細菌の日内変動調査では、起床直後が最も菌数が多く、ブラッシングと朝食により激減し、昼食・夕食後は高く食後のブラッシング後は、朝食後の細菌数位まで低下している²⁸⁾。わが国の文献検索をしたところ、口腔内の細菌の日内変動はNolteの文献引用がされている。前述した医中誌（原著論文、会議録を除く）の58件の文献では、ほとんどが口腔ケア方法の評価を細菌検査で行なっているが、日内変動を調査しているものは見あたらなかった。

Nolteの唾液内細菌は、早朝起床時 $100 (\times 10^8 / \text{ml})$ 、朝食歯磨き後 $10 (\times 10^8 / \text{ml})$ 、昼食後 $50 (\times 10^8 / \text{ml})$ 、昼食歯磨き後 $10 (\times 10^8 / \text{ml})$ 、夕食 $50 (\times 10^8 / \text{ml})$ ～ $60 (\times 10^8 / \text{ml})$ 未満、夕食後歯磨き $10 (\times 10^8 / \text{ml})$ 、翌朝 $100 (\times 10^8 / \text{ml})$ だった。このグラフは、起床時が最高値を示し、食事後は値が高く歯磨き後は低くなっていった²⁸⁾。Nolteの唾液の細菌数の日内変動では、就寝前は調査していなかったが、今回は、就寝前のATP

値がないと翌朝と比較できないと考えたので、就寝前の歯磨き前後も加えた。

Nolteの唾液の細菌数と唾液のATP値の日内変動を比較すると、早朝起床時水洗後は低値を示し、食後歯磨き前は低値、歯磨き後が高値を示している。図1の唾液のATP値（平均値）の推移も、Nolteの唾液の細菌数の推移と類似していなかった。

ATPふき取り検査は、微生物と食物残渣がもつAMPもATP総量としてとらえ測定するので、唾液成分（無機成分、有機成分、高分子成分）や食物残渣、口腔内の微生物との総合値として表示され、先行研究のグラフと類似しなかったと考えられた。また、歯面、歯肉、歯周ポケット、舌面にあるバイオフィルムが歯磨きやうがいの作用で唾液内に剥がれ落ち、うがいが不十分で口腔内に微生物や食物残渣が停滞していることが考えられた。今回は、口腔の状態、齲歯、乾燥、口臭、舌の状態の影響は調べていない。また、健常者の通常の歯磨きという設定であり、歯磨き方法やうがいの仕方等を一定にしなかったため、唾液のATP値のばらつきがあったことはいじめない。今後、口腔清掃の方法を一定にして、日内変動を再検してみることが必要である。

起床時は、滅菌水50mlでうがいをした後に測定したので、水洗によるうがいで唾液が希釈されATP値が低い値を示していたと考えられた。神野らの調査では、水道水による15秒間のうがいでも一般細菌の減少率は55%であり、含嗽剤に匹敵すると報告している¹⁴⁾。本結果からいえることは、早朝起床時水洗によるうがいだけでも、夜間睡眠中に増殖している微生物を減少させる効果があることが証明できたと考えるが、起床時水洗前のATP値は調べていないので、どれくらい減少しているかはわからなかった。

口腔ケアの指標を口腔常在菌で検討している先行研究においても、必ずしも全例の細菌数が減少しているわけでもなかった。神野らのグループの口腔ケアの効果に関する検討（第2報：含嗽剤による含嗽効果の検討¹⁴⁾、第3報：ブラッシングの効果¹⁵⁾）では、うがい剤で16例中2例（13%）、ブラッシングで15例中4例（26%）が増加していた。さらに、口腔ケアの評価を蛍光色素による口腔内細菌数で調査している研究³⁵⁾においても、11名中4名（36%）が口腔ケア後に細菌数が増加していた。口腔ケア後に細菌数が増加した理由として、ブラッシングにより歯の表面の獲得皮膜や歯垢といったバイオフィルムが剥離し、その後の含嗽が十分行なわれていないためと考察しており^{14) 15)}、本研究と同様であった。Sancheの、マウスリンス（洗口剤）の抗菌効果を調べた研究では唾液のATP値と細菌数の相関関係が $0.769 (p < 0.001)$ であり、マウスリンスの抗菌性を評価するための有用な

ツールであると述べている³¹⁾。今後、歯磨きの方法やうがいの仕方を一定にして、唾液のATPふき取り法の調査を計画している。歯磨き粉や歯ブラシ、水洗の水道水の量とうがいの回数等を一定にし、うがい回数による唾液のATP値の変化を見ることで、歯磨き後の汚れの停滞を証明していきたい。

3. 口腔ケアへの提言

先行研究のNolteの唾液内細菌と類似した結果が求められるだろうと仮定した。食後歯磨き前のATP値は、唾液成分（無機成分、有機成分、高分子成分）や食物残渣と口腔内の微生物が残留しているためATP値が高く、歯磨き後はブラッシングやうがいによって口腔外にはき出され、口腔内は清潔な状態と考え、ATP値は歯磨き後に低くなると仮定した。しかし、歯磨き後のATP値の平均は歯磨き前よりも高くなっていった。食事後のATP値が低いのは、食事後水分、お茶等の補給により唾液が飲み込まれている³⁰⁾ことが推測される。また、歯磨き後ATP値が高値だったのは、前述したとおりである。

唾液にはムチン、ヒスタミン、シスタチン、デフェンシンなどの自然免疫物質が存在するが、口腔内のバイオフィルム細菌集団はそれらの防御機構に打ち勝って定着するといわれている^{8) 9) 28)}。今回、歯磨きによって、歯垢がはがれ、通常のうがいでは唾液の汚れまでは清掃できないことが考えられ、先行研究と同様に口腔内を隅々まで水洗するか、薬剤などの含嗽水の併用をしていくことが求められる^{13) 14) 15)}。しかし一方で、大竹は、高齢者の口腔ケアとして、いろんな作用のある唾液をうがい等で外に出すことは無意味であり、飲み込んで良い唾液を分泌させるには、歯磨き粉をつけずに磨くか、ポピオンヨード剤などの飲み込んでよい薬を使って磨くか、うがいせずに磨いた汚れを水道水で洗い流すだけでよいと述べている³²⁾。したがって、一般健常者の歯磨き習慣、高齢者の口腔ケア、がん化学療法後の口内炎予防、周術期や呼吸器装着後の感染症予防のための口腔ケアでは、各々の対象に合わせた口腔ケアの方法が求められる。そして、口腔ケア後の口腔衛生状態を目視の観察とともに客観的指標を得ることは、対象の口腔ケアの方法を承認し、セルフケアの動機づけにもなると考えられる。

4. 口腔内清浄度の客観化の有効性について

本研究は、9回の日内変動でみた唾液のATP値には、有意差は認められなかった。個別のグラフでは歯磨き前後には差がある傾向が見られたので、9回の直近対応でt検定を行なった。その結果、就寝後歯磨き後と翌朝起床時水洗後には有意差($p < 0.05$)が認められた。これは、前述したように、夜間睡眠中に増加している口腔内の細菌

菌が唾液に溶け込んだとしても、起床時の水洗で細菌が減少し、それがATP値に反映したと考えられた。

今回、早朝起床水洗時の唾液のATP値を基準にして、食事後、歯磨き後のATP値との比率を比較した。比率の平均値が1.75倍～4.06倍であり、平均値の低い順に、翌朝起床時(1.75倍)、昼食後(1.98倍)、夕食後(2.81倍)、就寝歯磨き前(3.06倍)、朝食歯磨き後(3.32倍)、昼食歯磨き後(3.81倍)、夕食歯磨き後(3.81倍)、就寝歯磨き後(4.06倍)だった。早朝起床時(水洗後)は何も食事摂取していない状態でしかも夜間に増殖している細菌が水洗によってATP値が一番低いと仮定される。各食事後、各歯磨き後とATP値の比率が高くなっていった。また、食後より歯磨き後がATP値の比率が高く、起床、朝食、昼食、夕食という時間の経過に従い比率が高くなっていったことに注目したい。このことは、唾液のATP値は時間経過とともに高くなり、口腔内の汚れは蓄積しているという推定もできる。すなわち「唾液に含まれるATP値が1日を通して食事の前後で継時的に変化することを示しており、時間の流れとともに口の中の汚れも増えていく」ということがいえるであろう。

また、食後のATP値の比率が低かったのは、唾液によって口腔細菌は洗い流され食道に常に転落しているという定説^{9) 30) 33)}から論拠づけられる。さらに、歯磨き後の比率が高くなっていったことは、歯磨きによって歯垢面のプラークが吐き出されATP値を高くしていること、うがいの仕方によって食物残渣やプラークが残留していることを示していると考えられた。最大値の幅が大きいことは、個人的な歯牙の状態やプラークの多さ、歯磨きやうがいの仕方等が影響していると考えられた。また、唾液の分泌は食物摂取により分泌量が増えることや唾液のpHが酸性になり歯の成分が溶け出す、唾液の緩衝作用で歯の成分も元に戻る再石灰化作用などがあるので³³⁾、唾液の成分や働きがATP値に反映することも考えられた。ATPふき取り法の他に唾液のpH等の調査も併用することも必要である。

ATPふき取り検査の活用マニュアルの資料²²⁾には、まな板の洗浄を例にして、一般細菌とATP量の関係が示され、清潔な場所(細菌が非検出)でもルミテスター発光量(RUL)が高値を示し、細菌はなくても食物残渣が残っていることが示され洗浄不良を示唆できるといわれている。まな板の汚れの細菌数で比較したものでは、ATP値100,000(RUL)には、10,000,000(CFU/ml)の細菌数があることも示されているので、早朝の唾液には、先行研究と同様の細菌 $100 (\times 10^8 / \text{ml})$ は含まれていると考えられた。

キッコーマンの調査による食品のATP値と比べると、早朝時唾液のATP値平均値(115693 RUL)は、豆乳(約

100000 RUL) の値に近く、就寝前の歯磨き後 (268976 RUL) はソーセージや冷凍ハンバーグの ATP 値 (約 500000 RUL) より低い値だった。起床時の ATP 値に比べて日中の ATP 値が高いということは、唾液の成分の他に食物残渣や口腔内に入り込んだ細菌が含まれており、汚れを示していると考えられ、ATP ふき取り法は口腔内の衛生状態の判定には有効な手段であると考えられた。

今回の研究の限界としては、被験者の通常の歯磨き前後の唾液の ATP ふき取り法を行なったため、ATP 値に影響を与える要因が大きかったといえる。しかしながら、わが国では唾液の ATP 値の日内変動の研究を初めて行なったことは意義深いと考える。ルシバック Pen による ATP 値の測定は、口腔内の清浄度を調べる簡便な方法であるとともに、10秒で判定され客観的な指標として優れていると考える。

口腔内の衛生状態の指標の検討は、他の文献でも細菌培養の不便さを解決するための方法が開発されている。PC 染色⁵⁾ は歯科領域の専門科の介入が必要なため簡便な方法とはいいがたく、細菌培養法による判定^{13) -16)} には日数も要するので、蛍光色素を用いた口腔内細菌の可視化³⁵⁾ やリアルタイム PCR 法による総菌測定³⁶⁾ も行なわれるようになってきている。今後、唾液の同検体で ATP 値と細菌数の相関を調べることも検討していきたい。また、唾液の ATP 測定の意義について、健常者の歯磨き行動の統一、うがいの効果、食物残渣の影響などについて継続研究を行い、ひいては抗がん剤治療を受ける患者等の口腔ケアの客観的指標についても追求していきたい。

VI. 結 論

1. 唾液 ATP 値は、1日を通して食事や歯磨きの前後で継時的に変化したことを示していたので、唾液の ATP ふき取り法による ATP 値の測定は、口腔内の清浄度を調べる簡便な方法であり、客観的な指標として有効であることを示唆した。
2. 就寝前歯磨き後の ATP 値と翌朝起床時水洗時の ATP 値に有意差が得られたことは、起床時の水洗の効果を裏付けることも推定された。

謝 辞

本研究にご協力いただきました看護学部の教員の皆様に感謝申し上げます。

引 用 文 献

- 1) Sonis, ST and Elthing, LS and Keefe, D et al: Perspectives on Cancer Therapy-induced Mucosal Injury Pathogenesis, Measurement, Epidemiology, and Consequences for patients, Cancer Supplement, 100(9), 1995-2005, 2004.
- 2) Keefe, DM and Schubert, MM and Elting, LS: Updated Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Treatment of Mucositis, CANCER, 109(5), 820-831, 2007.
- 3) 野村基雄: 化学療法における口内炎の予防策を考える - PRIZE Study より得られた知見 -, 医学と薬学, 69(4), 637-642, 2013.
- 4) 厚生労働省: 重篤副作用疾患別対応マニュアル抗がん剤口内炎平成21年5月 (<http://www.info.pmda.go.jp/juutoku/file/jfm0905011.pdf>, 2013年2月閲覧)
- 5) 越野美紀, 坂井千恵, 小倉孝文他: がん化学療法時の口腔ケアによる口内炎予防効果, 癌と化学療法, 36(3), 447-451, 2009.
- 6) 関美幸, 北田陽子, 石川仁他: 頭頸部領域以外の癌化学放射線療法で発症する口腔内症状の実態と看護, Kitakanto Med J, 60, 339-344, 2010.
- 7) 花輪剛久: がん化学療法および放射線療法時の口内炎発症予防を目的としたレバミピド含嗽液, 月刊薬事, 54(1), 141-145, 2012.
- 8) 奥田克彌: 口腔ケアにおける口腔内バイオフィルムコントロールの重要性, ICU と CCU, 33(10), 749-756, 2009.
- 9) 福泉隆喜: 口腔内の細菌と口腔ケア, 臨床オーラルケア, 柿木康明編著, 28-3, 日総研, 2000.
- 10) 太田洋二郎: がん患者に起こる口腔内症状とマネジメント, 薬局, 61(3), 86-91, 2010.
- 11) Eilers, J and Berger, AM and Petersen, MC: Development, testing and application of the oral assessment guide, Oncology Nursing Forum, 15(3), 325-330, 1988.
- 12) 有害事象共通用語基準 V4.0 日本語訳 JCOG 版: Common Terminology Criteria for Adverse Event (CTCAEv4) (http://www.jcog.jp/doctor/tool/CTCAEv4J_20130409.pdf, 2010年11月閲覧)
- 13) 茂木健司, 笹岡那典, 樋口有香子他: 各種口腔ケアの効果に関する検討 - 口腔常在菌数を指標として - 第1報 含嗽剤の薬剤効果, Kitakanto med J, 57, 239-244, 2007.
- 14) 神野恵治, 茂木健司, 笹岡那典他: 各種口腔ケアの効果に関する検討 - 口腔常在菌数を指標として - 第2報 各種含嗽剤による含嗽効果の検討, Kitakanto med J, 58, 1-7, 2008.
- 15) 笹岡那典, 茂木健司, 神野恵治他: 各種口腔ケアの効果に関する検討 - 口腔常在菌数を指標として - 第3報 ブラッシングの効果, Kitakanto med J, 58, 147-151, 2008.

- 16) 尾崎公子, 尾崎孝平: 口腔ケアとグラム染色-VAPバンドルだけでは不十分, 上気道全体の微生物状況をアセスメントせよ! -, 呼吸器ケア, 10(3), 89-94, 2012.
- 17) 本田隆宏, 脇屋友美子: VAP対策, 呼吸器ケア, 4(1), 105-112, 2006.
- 18) 久野彰子, 仲谷寛, 佐藤勉他: 高齢者における歯周病の唾液に検査に関する研究, 日歯周誌, 44(3), 261-272, 2002.
- 19) 松村真澄: 歯科医科連携による口腔機能向上は高齢者のQOLを高める 1) 看護師による高齢者の口腔ケア, Geriatric Medicine, 47(12), 1583-1588, 2009.
- 20) 小林直樹: 認知症におけるリスクヘッジとしての口腔ケア, Nursing Today, 12(24), 82-86, 2009.
- 21) 厚生労働省: 平成24年度診療報酬改定の概要 (http://www.mhlw.go.jp/bunya/iryuhoken/iryuhoken15/dl/h24_01-03.pdf, 2013年2月閲覧)
- 22) キッコマン: ATP + AMP ふき取り検査活用マニュアル (<http://biochemifa,kikkoman.co.jp/products/kit/atpamp/pdf/pd20pen.pdf>, 2009年10月閲覧)
- 23) 渡部博一: ATP・AMP ふき取り検査を用いた消化器内視鏡の再処理工程に管理に関する検討, 感染制御, JICP, 6(3), 273-244, 2010.
- 24) 田村さとみ, 中村すま子, 土屋澄子他: 洗浄方法による吸引管の洗浄効果の比較 - ATP ふき取り検査による検討 -, 医機学, 80(5), 423-424, 2010.
- 25) 山本容子, 室田昌子, 岩脇陽子他: 看護師に対するATPふき取り検査及び蛍光塗料とブラックライトを併用した手指衛生教育の効果, 日本看護科学学会学術集会講演集, 32, 239, 2012.
- 26) Shahram Fazilat and Rebecca Sauerwein and Jennifer Mcleod et al: Application of Adenosine Triphosphate-Driven Bioluminescence for Quantification of Plaque Bacteria and Assessment of Oral Hygiene in children, Pediatric Dentistry, 32(3), 195-204, 2010.
- 27) Kikkoman: 清浄度検査キット (拭き取り)「ルシバック Pen」取り扱い説明書, 商品コード: 60331
- 28) Nolte,W,A: Oral microbiology with basic microbiology and immunology, 4th ed, 198-201, Mosby, 1982.
- 29) Oshikohji,T. Shimazaki,Y. Shinagawa,T et al: Relationship between Receiving a Workplace Oral Health Examination Including Oral Health Instruction and Oral Health Status in the Japanese Adult Population, Journal of Occupational Health, 53, 222-229, 2011.
- 30) ホーム 歯科なんでも調べよう唾液の作用: 唾液の作用 (http://www.ibmjapankenpo.jp/edental/3_dictionary/2_6.html, 2013年11月閲覧)
- 31) Sanchez,MC and Llama-Palacio,A and Marin,MJ et al: Validation of ATP bioluminescence as a tool to assess antimicrobial effects of mouthrinses in an in vitro subgingival-biofilm model, Med Oral Patol Cir Bucal.18(1), e86-92, 2013.
- 32) 大竹邦明: 寝たきりにならない, 寝たきりにさせないための高齢者口腔ケア 介護保険のいらない高齢社会を目指して, 32-50, 風人社, 2000.
- 33) 花田信玄: 口腔内の細菌に対して, 唾液はどんな働きをするのですか?, 歯界展望, 105(3), 583, 2005.
- 34) Kao ヘルスレポートの発行: 口腔環境から健康を考える - 清浄な口腔内環境からはじまる健康生活 (http://www.kao.co.jp/rd/healthcare/activity/healthcare32_03.html, 2013年11月閲覧)
- 35) 山本美紀, 村林宏, 大森行雄他: 蛍光色素を用いた口腔内細菌の可視化と口腔ケア評価への活用について, 日本看護研究学会雑誌, 3(2), 47-53, 2012.
- 36) 横山正明, 福井誠, 増田かなめ他: リアルタイム定量PCR (qPCR) 法による唾液中の総細菌数の測定 - 口腔清潔度の指標としての試み -, 口腔衛生会誌 J Dent Hlth, 59, 183-189, 2009.