

義歯装着者のカンジダ属 分離状況と義歯使用状況 との関連性の検討

久保田順子



(くぼた・よりこ)
ICDフェロー
日本大学松戸歯学部
大学院歯学研究科
歯学専攻
(口腔病理学)

I. 緒言

慢性口腔カンジダ症は2017年のWHO Classification of Head and Neck Tumoursの改訂で、新たに口腔潜在的悪性疾患に分類された。前癌病変と前癌状態の区別がなくなり、口腔がんに進展する可能性を有する臨床状態と捉える概念である。慢性カンジダ症の悪性化率は低いと考えられているが、カンジダ菌種と臨床病態との関連性の解明が望まれる。

口腔カンジダ症の診断には様々なものがある。その中でも、口腔粘膜擦過細胞診は低侵襲かつ高い真菌検出率を有し、歯科臨床においても頻用されているが、菌種の同定は困難である。ところがカンジダ属は菌種による真菌剤感受性に違いを示し、殊に非*Candida albicans*か否かによる生態侵襲への影響の違いが着目され始め、より正確な菌種の同定が求められている。その一方、口腔内の真菌分離状況については数多く報告されているが、菌種の同定に関して大部分がカンジダ分離培地を使用しており、質量分析による精度の高い解析報告は認められない。

そこで本研究の目的は、義歯装着者89名を対象としてカンジダ分離培地および質量分析によるカンジダ属の分離を行い、これら2つの手法による結果の差異を検討すること、さらに義歯性口内炎と義歯の清掃状況との関連性を明らかにすることである。

II. 対象

2017年8月～2018年9月にくぼた歯科・矯正歯科に来院した義歯装着患者のうち、本研究の趣旨に同意した89症例を対象とした。症例の内訳は、男性49名、女性40名、年齢幅43～99歳、平均年齢74±9歳、義歯の形態は、上顎総義歯25例、上顎局部床義歯47例、下顎総義歯2例、下顎局部床義歯15例であった。

III. 材料および方法

1) 肉眼所見

義歯床下粘膜面における義歯性口内炎の有無を確認し、義歯性口内炎がみられた症例については、色(赤、白、混在)、大きさ(局所、全体)について観察した。

2) カンジダ選択分離培地および質量分析MALDI-TOF MSによる菌種の同定

義歯床粘膜面に対し、滅菌精製水に浸した綿棒で10回擦過した後、主要カンジダ属菌種鑑別用分離培地（クロモアガー培地、KANTO KAGAKU社、日本）に20回塗抹を行い、PERSONAL DESKTOP INCUBATOR P-BOX（SANPLATEC社、日本）にて38℃の環境下で2日間培養を行った。その後クロモアガーカンジダ培地に発現したコロニーの色調と形状および量の観察を行った。さらに分離培養の菌株は質量分析装置（MALDIバイオタイパー、ブルガージャパン株式会社、日本）を用い、MALDI-TOF MSにて同定検査を行った。

3) 問診表に基づく義歯の清掃状態の調査

問診表とカルテ記述に基づき、(1)義歯の装着期間、(2)義歯の清掃習慣：①義歯の清掃頻度、②義歯用ブラシ等の使用の有無、③義歯洗浄剤の使用の有無、(3)デンチャーブランクの有無、(4)義歯の就寝時装着の有無、(5)義歯安定剤の使用の有無を明らかにした。

IV. 統計学的解析

義歯性口内炎の有無と義歯の清掃状況との関連性は、Fisherの正確確率検定およびカイ二乗検定にて $p < 0.05$ を有意差ありとした。さらに、真菌培養と質量分析結果の一致率はカッパ係数にて検討した。

V. 結果

1) 肉眼所見

義歯装着患者89症例のうち、義歯性口内炎（+）が18例、義歯性口内炎（-）が71例であった。義歯性口内炎の色調は、赤色病変13例、白色病変3例、赤色白色病変の2例であった。義歯性口内炎（+）症例の義歯の種類は、上顎総義歯10例がであり、最も多かった。

2) 菌種の同定

①MALDI-TOF MS結果

義歯装着者89症例の義歯床粘膜面から検出された菌種はカンジダ属が最も多く、*Candida albicans*（以下*C.albicans*）42例、*Candida glabrata*（以下*C.glabrata*）21例、*Candida parapsilosis*（以下*C.parapsilosis*）15例、*Candida tropicalis*（以下*C.tropicalis*）5例、*Candida krusei*（以下*C.krusei*）1例であった（図1）。

被検者89症例の義歯床粘膜面からのカンジダ属の検出率は、65.2%（58人/89人）であった（図2）。その感染形態は、単独感染が38.2%（34例）、混合感染が27.0%（24例）、感染なしが34.8%（31例）であった。単独感染34例においては*C. albicans*が20例と最も多く認められ、混合感染24例においては、*C. albicans*と*C. glabrata*の組み合わせが最も多く12例認められた。

義歯性口内炎（+）症例と義歯性口内炎（-）症例の義歯床粘膜面からのカンジダ検出率を比較すると、義歯性口内炎（+）症例では94.4%（17人/18人）

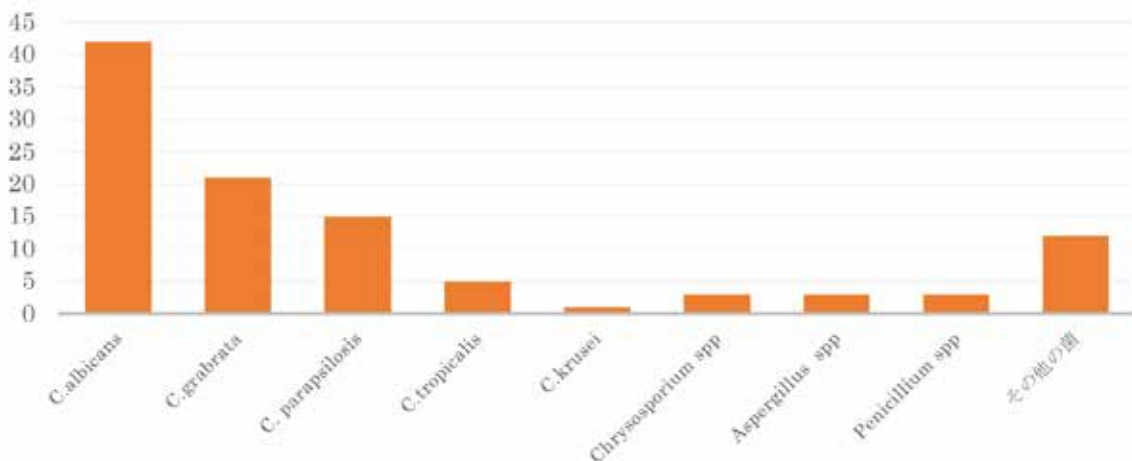


図1 義歯床粘膜面の真菌の分離状況（n=89）

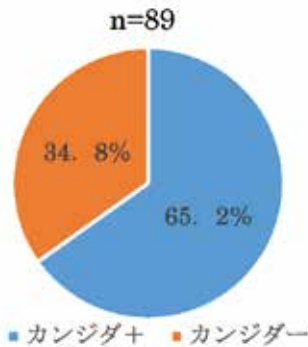


図2 義歯からのカンジダ検出

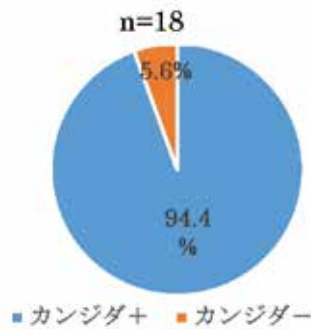


図3 義歯性口内炎 (+) からのカンジダ検出

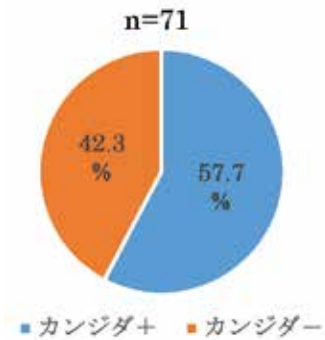


図4 義歯性口内炎 (-) からのカンジダ検出

(図3)、義歯性口内炎(-)症例では57.7%(41人/71人)であった(図4)。義歯性口内炎(+)
18症例の義歯床粘膜面の感染形態は、単独感染が50.0%(9人)、混合感染が44.4%(8人)、感染なしが5.6%(1人)であった。単独感染9例においては*C. albicans*が6例、*C. glabrata*が2例、*C. tropicalis*が1例、混合感染8例においては*C. albicans*と*C. glabrata*の組み合わせ5例で最も多かった。一方、義歯性口内炎(-)71症例の義歯床粘膜面の感染形態は、単独感染が35.2%(25人)、混合感染が22.5%(16人)、感染なしが42.3%(30人)であった。単独感染では、*C. albicans*が14例と最も多く、混合感染においては、*C. albicans*と*C. glabrata*の組み合わせが7例で最も多かった。義歯性口内炎(+)
と義歯性口内炎(-)症例とのカンジダ5菌種の検出率を比較すると、義歯性口内炎(+)
症例で*C. albicans*と*C. glabrata*の検出率が高かった(表1)。

②カンジダ分離培地による色判定とMALDI-TOF MSによる菌種の同定の一致率

真菌培養による菌種の色判定とMALDI-TOF MSによる菌種の同定との一致率(κ)は、*C. albicans*

0.620、*C. glabrata* 0.807、*C. parapsilosis* 0.584、*C. tropicalis* 0.516、*C. krusei*が0.011であった(表2)。*C. glabrata*のみの一致率が高かった。カンジダ属検出に対するカンジダ選択分離培地による色判定の精度は、MALDI-TOF MSで検討すると感度93、特異度83.9であった。

3) 問診表に基づく義歯の清掃状態と義歯性口内炎との関連性

義歯性口内炎(-)症例において、義歯洗浄剤の使用割合、デンチャープラークの付着なしの割合、就寝時装着なしの割合、義歯安定剤使用なしの割合が高かった(表3)。

VI. 考察

1) 義歯性口内炎(+) と義歯性口内炎(-)症例におけるカンジダ属分離状況の比較

カンジダ菌種別検出率を比較すると、義歯性口内炎(+)
症例では、*C. albicans*が72.2%、*C. glabrata*が44.4%、義歯性口内炎(-)
症例では*C. albicans*が40.8%、*C. glabrata*が18.3%であり、差異が認められた。その他の3菌種では大きな差は見られなかった。

表1 義歯性口内炎(+)
症例と義歯性口内炎(-)
症例のカンジダ検出率

菌種	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>
義歯性口内炎(+)	72.2%	44.4%	11.1%	11.0%	0.0%
義歯性口内炎(-)	40.8%	18.3%	18.3%	4.2%	1.4%

表2 カンジダ分離培地による色判定とMALDI-TOF MSとの一致率

菌種	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>
一致率(κ)	0.620	0.807	0.584	0.516	0.011

表3 問診表に基づく義歯の清掃状態と義歯性口内炎との関連性

項目	選択肢	義歯性口内炎(-)	義歯性口内炎(+)	P値
義歯清掃習慣	あり	70	17	0.365
	なし	1	1	
義歯用ブラシ	あり	47	11	0.783
	なし	24	7	
義歯洗浄剤	あり	64	11	0.007
	なし	7	7	
デンチャーブラーク	清潔	51	3	<0.001
	あり	20	20	
就寝時装着	あり	14	8	0.038
	なし	57	10	
義歯安定剤	あり	6	5	0.041
	なし	65	13	

Silvaらは、*C.albicans*と*C. glabrata*の粘膜上皮への浸潤能を検索した。その結果、*C. glabrata*は単独での感染力は弱い、*C.albicans*と混合感染すると感染力が増強すると報告している。今回の研究においても、*C. albicans*および*C.glabrata*と義歯性口内炎の発症との関連性が示された。

2) カンジダ選択分離培地による色判定とMALDI-TOF MS結果との比較

カンジダ属検出に対するカンジダ選択分離培地の精度は高かった。しかし、カンジダ5菌種における一致率については、*C.glabrata*が高く、その他のカンジダ

属は低かった。カンジダ属による病態発現や薬剤抵抗性に関する検討の必要性が増す今日、同定検査として質量分析の有用性が示された。

3) 義歯の清掃状態と義歯性口内炎の発症の関連

義歯清掃習慣、義歯用ブラシ使用、就寝時装着および義歯安定剤使用の有無の4項目において有意な差を認めなかった。一方、義歯洗浄剤使用およびデンチャーブラークの有無の2項目において有意な差を認めた。義歯性口内炎の発症には、義歯洗浄剤の使用とデンチャーブラークの有無が関連因子となると推察された。