

平成 22 年 3 月 25 日現在

研究種目： 基盤研究 (B)

研究期間： 2007~2008

課題番号： 19390525

研究課題名 (和文) 表在性真菌症の診断・治療法の確立とネットワーク作りの検討

研究課題名 (英文) Establishment of methods for diagnosis and treatment of subcutaneous mycosis and trial of network formation

研究代表者

前田 伸子 (MAEDA NOBUKO)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号： 10148067

研究成果の概要：

表在性真菌症の正確な診断/治療法の確立を目的とし、リスクグループであるドライマウス患者を対象に臨床的・基礎的プロファイル化による診断マニュアル作成を試み、それらの信頼度向上のため全国的ネットワークの立ち上げを試みた。

- 1) 簡便で定量的 *Candida* 検出法の検証
- 2) 口腔症状から診断用 *Candida* CFU カットオフ値設定
- 3) 宿主血清学的検査値の相関成分および宿主由来の新たな抗カンジダ活性物質の同定
- 4) H-2 ハプロタイプの異なるマウス口腔カンジダ症モデルにおける病理組織学的分析
- 5) 多施設ネットワーク作成共通プロトコール設定

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|-----------|------------|
| 2007年度 | 10,100,000 | 3,030,000 | 13,130,000 |
| 2008年度 | 4,100,000 | 1,230,000 | 5,330,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 14,200,000 | 4,260,000 | 18,460,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・病態科学系歯学

キーワード： *Candida* カットオフ値
口腔カンジダ症 マウスモデル免疫・感染・炎症
ドライマウス

1. 研究開始当初の背景

Candida albicans に代表される *Candida* 属の真菌は口腔常在性がありながら、カンジダ症を引き起こす潜在的病原性を持つ日和見感染病原体である。平成 14 年に本学歯学部病院に開設されたドライマウス外来にはすでに 3000 人超が口腔乾燥感や口腔内の不具合を訴え来院している。我々は舌を中心とした口腔粘膜の疼痛、違和感や味覚異常と *Candida* 菌数とが正の相関を示し、抗真菌薬の投与によりその症状が軽減されることを明らかにした。以上の調査結果は口腔の疼痛や不愉快な違和感・異常感に紅斑性口腔カンジダ症による可能性を強く示唆している。

紅斑性カンジダ症は偽膜性と比べ診断が難しく、多くの患者は口腔粘膜の痛み

を心因性として誤診され、数～十数年放置されてきた。日常的な痛みが絶えずあり、発語にも困難を伴うことが多いため QOL が著しく損なわれている。同様のことが多くの高齢者、義歯装着者、HIV 感染症患者で指摘されている。

我々はこの現状を打開するため基礎的および臨床的調査および検査結果に基づき、正確な診断/治療法を確立することを目的として当該研究を企図した。

2. 研究の目的

近年、偽膜性カンジダ症は減少し、診断の非常に難しい紅斑性/萎縮性カンジダ症の増加が報告されている。そこで、紅斑性/萎縮性カンジダ症を正しく診断できるマニュアルを作成し、日常診療で利用するだけでなく、双方向に診断の検討ができるような全国的なネットワークを立ち上げ

る。さらに、この診断法に基づいて集積された全国の症例に対して、効果的な治療法を作成し、患者さんの QOL 向上に寄与することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

すべての臨床観察研究は鶴見大学倫理審査委員会の承認を得、被検者からはインフォームドコンセントを得て行った。また動物実験は実験動物委員会の承認を得て行った。

(1) 臨床データのプロファイル化
表在性真菌症の疑いの患者の a~e の項目を中心にプロファイル化を行った。

- a 舌を中心とした口腔所見；発赤、亀裂他
- b 安静時／刺激時唾液分泌量
- c 口腔内の自覚症状；疼痛、違和感、不快感他
- d 全身状態；全身疾患既往、疼痛、違和感他
- e その他；使用中の薬剤、ストレスなど

(2) 微生物学的解析とプロファイル化
表在性真菌症の微生物学のおよび宿主の生体防御に関するデータも (1) と同様に解析し、基礎プロファイル化を行った。

- a 微生物学的検査；
 - ・舌由来試料の *Candida* 検出率／菌数
 - ・各分離菌株の抗真菌薬・物質感受性検査
 - ・分離菌株の病原因子の定性・定量的分析；分泌性アスパラギン酸プロテアーゼ、ホスホリパーゼ

・分離菌株の genotyping (DNA-PCR 法) および抗真菌ペプチドに対する感受性の測定

- b 宿主の生体防御に関する唾液中・組織由来の抗真菌ペプチドの分析；
- ・唾液・組織中の抗真菌ペプチドの特性分析、および測定と発現パターンの分析

真菌症発症・非発症被験者群間で比較。

(3) 病理学的データ解析とプロファイル化の可能性の検討

口腔局所および実験動物から表在性真菌症組織を採取し、病理組織学的所見と紅斑性／萎縮性病態との関連の検討を行った。

(4) 表在性真菌症診断／治療のガイドライン作成の試み

上記(1)~(3)に関して相関を統計的に解析し、感度と信頼度の高い診断のガイドライン作成のベースとなるカットオフ値の設定を行った。

(5) 表在性真菌症発症に関わる宿主因子検討

バイオマーカー候補となる血清成分を本学附属病院ドライマウス外来受診者にて測定した。

(6) 臨床歯科医ネットワークの立上げ

(1)~(5)で作成したガイドラインをもとに、表在性真菌症の診断と治療に関するネットワークを構築した。

4. 研究成果

(1) *Candida* 測定用サンプル採取法と診断用 CFU カットオフ値設定の試み
口腔内症状と *Candida* 検出率・菌数との相関分析を行い、診断に有用な *Candida* 菌数カットオフ値を設定した。

1. *Candida* 菌の検出方法の比較

【対象と方法】

1-1. 患者選択

本学附属病院ドライマウス外来の受診者 678 名 (男性 127 名, 女性 551 名, 平均年齢 62.3 歳, 範囲 4-92 歳) において、初診時スワブ法での *Candida* 検査で 20CFU 以上を検出した患者を対象とした。

1-2. サンプル採取 (スワブ, 洗口, 沈査比較)

スワブ法は舌背表面を 10 回滅菌綿棒 (栄研化学, 東京) で擦り、CHROMagar *Candida*

(Chromagar microbiology, France) へ直接接種した。リンス法は、滅菌水 10mL で 1 分間すすぎ回収し、沈査法はリンスサンプルを 10000rpm, 10 分間, 4°C で遠心し、沈査を無菌水 100 μ l にて再懸濁し同培地へ接種した。30°C にて 48 時間培養した後、*Candida* CFU 数を計測した。

【結果】

初診で 20CFU 以上検出された被験者数は 85 名であった。異なるサンプル採取法により得られた *Candida* CFU を比較した (表 1)。

3 つのサンプル採取方法によって得られた CFU 値はお互いに強い相関を示した (表 3)。これらの結果から、スワブ法はリンス法または遠沈法の代替方法と成り得ることが示された。

Table 1. Comparison of three sampling methods in *Candida* colony formation

| | Swab | Precipitation |
|-------|-------|---------------|
| Rinse | 0.74* | 0.93* |
| Swab | | 0.71* |

Table 2. Spearman's rank-correlation coefficient between each two sampling methods (* $p < 0.001$)

| | | Total <i>Candida</i> | <i>C. albicans</i> | <i>C. glabrata</i> |
|-------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| Swab | n | 85 | 73 | 54 |
| | Average CFU \pm SD | 186.56 \pm 307.03 | 110.41 \pm 49.71 | 122.24 \pm 264.30 |
| | Median CFU | 56 | 30 | 20.5 |
| Rinse | n | 85 | 70 | 47 |
| | Average CFU \pm SD | 375.69 \pm 491.96 | 261.07 \pm 13.35 | 246.49 \pm 402.64 |
| | Median CFU | 108 | 64.5 | 83 |
| Ppt | n | 85 | 73 | 51 |
| | Average CFU \pm SD | 1079.58 \pm 1301.1 | 824.42 \pm 188.87 | 585.43 \pm 929.41 |
| | Median CFU | 666 | 408 | 196 |

2. 紅斑の発生率と *Candida* 数増加との関連
口腔兆候は VAS, 口腔所見は陽性/陰性で評価した。*Candida* 検出は 1 の結果より方法間の差が無いことが確認されたので、スワブ法での結果を CFU で表した。統計解析は SPSS 14.0J を用い、因子分析は主成分分析を行いバリマックス回転を行った。ROC 曲線は CFU のカットオフ値を決定するために ROC 分析は因子分析からのコンポーネントの疾病率の差別化に使用した。

【結果】

変数の相関マトリックスは固有マトリックスより有意差があり、バートレット球面試験により相関関係を示した ($X^2=2830.8$, 自由度 78, $p < 0.0001$)。サンプリング適性のカイゼル-マイヤー-Olkin 基準は 0.846 であった。因子分析から 4 つの Factor が抽出された (表 3)。0.35 より大きい因子負荷量は関連した要因と判定され、因子分析では最初の主要構成要素 4 つが示され、それぞれ相違性は 19.8%、10.9%、8.9%、6.1% であった (表 3)。

ROC 分析

図 1 は 2 グループ間の被験者分布率の差を示した。紅斑性症状 (粘膜発赤) のない被験者の 50% は *Candida* が検出されず、分布率は CFUs 上昇とともに減少した。これに対し、紅斑性症状の

Table 3. Factor loadings for 4 factors of the sign

| | Factor 1 | Factor 2 | Factor 3 | Factor 4 |
|-----------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Dry of the tongue | 0.62 | 0.41 | 0.03 | 0.05 |
| Dry of the palate | 0.85 | 0.15 | 0.19 | -0.04 |
| Dry of the buccal mucosa | 0.85 | 0.19 | 0.23 | -0.03 |
| Dry of the lips | 0.68 | 0.33 | 0.12 | 0.17 |
| Redness of the tongue | 0.17 | 0.60 | 0.18 | 0.12 |
| Redness of the palate | 0.18 | 0.29 | 0.47 | 0.19 |
| Redness of the buccal mucosa | 0.17 | 0.22 | 0.74 | 0.11 |
| Redness of the lips | 0.22 | 0.30 | 0.44 | 0.38 |
| Angular cheilitis | 0.11 | 0.14 | 0.04 | 0.69 |
| Erosion of the tongue | 0.07 | 0.26 | 0.07 | -0.07 |
| Fissured tongue | 0.28 | 0.45 | 0.12 | 0.02 |
| Atrophy of the papillae of tongue | 0.20 | 0.45 | 0.18 | 0.23 |
| Coated tongue | 0.04 | 0.03 | 0.18 | 0.12 |
| Eigenvalue | 2.57 | 1.42 | 1.16 | 0.79 |
| Total variance [%] | 19.80 | 10.90 | 8.90 | 6.06 |

見られる被験者では11-100 CFUにピークが認められた。この結果は、発症は *Candida* CFUs と正に相関し、ヒストグラム各頂点を結んだ曲線の交点は紅斑性症状ありグループと症状なしグループとを区別するカットオフ値を示唆していた。

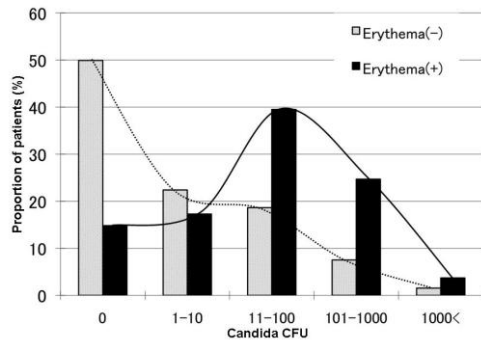


Fig.1 *Candida*CFU レベルのそれぞれのレベルにおける配分のヒストグラム (X 軸は *Candida*CFU、Y 軸は患者数の百分率)

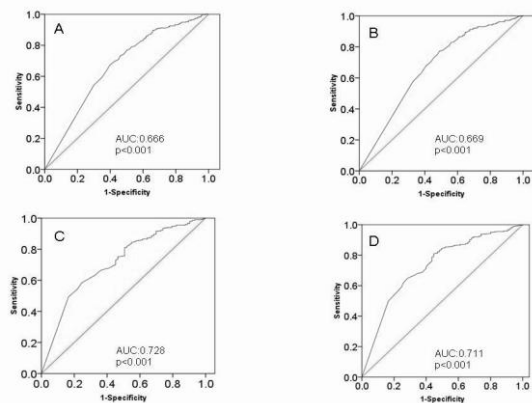


Fig.2 *Candida*CFU と口腔所見の因子の間の受信者操作分析(ROC)曲線

A; 因子1 口腔乾燥所見, B; 因子2 舌所見, C; 因子3 口腔粘膜発赤紅斑, D; 因子4 口唇所見; それぞれの4 因子の名称を、因子1が「口腔乾燥症状」、因子2は「舌症状」、因子3は「粘膜発赤症状」、因子4は「口唇症状」とした。

Candida CFUs と4 因子を比較した ROC 分析は、ドライマウス患者における最適な *Candida* CFU カットオフスコアを見つけるために行った。

その結果(図3)、因子1のAUC(ROC下面積)は0.666となり最適カットオフ値は4 CFU、因子2ではAUCが0.669でカットオフ値2 CFU、因子3ではAUC 0.728で9 CFU、因子4はAUC 0.711で9 CFUであった。

Table4. Optimum cut-off point of the CFU in each factor of the oral signs

| Factor | Cut-off point* | Sensitivity** | Specificity** |
|----------------------------------|----------------|------------------|------------------|
| Factor 1 (oral dryness) | 4 [1-9] | 67.1 [54.3-74.1] | 60.3 [70.0-51.9] |
| Factor 2 (signs in the tongue) | 2 [1-8] | 63.0 [57.7-77.3] | 62.2 [67.2-51.1] |
| Factor 3 (redness in the mucosa) | 9 [2-38] | 68.8 [55.1-83.8] | 62.4 [78.8-50.6] |
| Factor 4 (signs in the lips) | 9 [2-15] | 67.8 [54.3-75.0] | 58.9 [78.1-53.4] |

*The values are expressed as CFU. **The values are expressed as %. []: Range (Min-Max).

4 因子のうち、粘膜表層の発赤は紅斑性カンジダ症において最も重要な症状と考えられた。したがって、ドライマウス患者においてスワブ法サンプルで *Candida* が9 CFU 以上検出された場合、感度と特異度がおよそ69%と62%で紅斑性カンジダ症と判断されることが示唆される。同様に、口角炎もカンジダ症のメジャーな症状の1つであるので、9 CFU が因子4においても妥当なカットオフポイントであると思われる。

(2) 舌 *C. albicans* 感染に対し影響を及ぼす因子 -マウス口腔カンジダ症モデル-H2ハプロタイプの異なる3系統の近交系マウスにおいて口腔カンジダ症モデルを構築し舌への *C. albicans* 感染に対するマウス系統差と *C. albicans* の病原因子であるプロテアーゼ/ホスホリパーゼ産生能の影響について検討した。

【材料および方法】

マウス口腔カンジダ症モデルの作製; Takakura らの方法 (Microbiol Immunol. 47, 5: 321-6, 2003) に従って、マウス口腔カンジダ症モデルを作製した。

表5 マウス系統のH-2ハプロタイプ

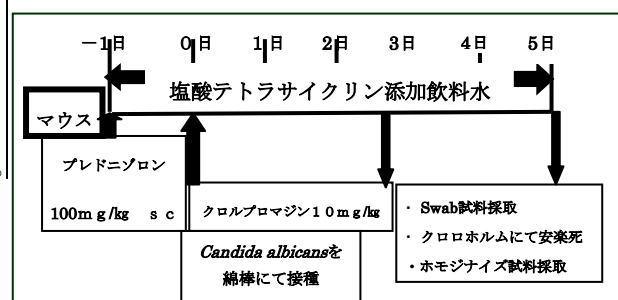
| マウス系統 | H-2ハプロタイプ | 表記 |
|-------------|------------------|--------|
| BALB/cBJcl | H-2 ^b | BALB/c |
| C3H/HeJJcl | H-2 ^k | C3H |
| C57BL/6JJcl | H-2 ^d | B-6 |

表6 供試した *C. albicans*

| 菌株 | プロテアーゼ産生能 | 由来 |
|-------------|-----------|------------|
| G45株 | 弱 | 臨床分離株* |
| Type-Strain | 中 | ATCC-18804 |
| G22株 | 強 | 臨床分離株* |

*健康成人の口腔由来の分離菌株
感染・試料採取のスケジュールを図3に示す。

図3 マウス口腔カンジダ症スケジュール



【結果】

舌への *C. albicans* の定着に対し、マウス系統差は、BALB/c が 3 種 *C. albicans* の全菌株において菌数が最も低く、逆に C3H は菌数が最も高く、B-6 は中間の菌数を示した (図 4、図 5)。3 種類の *C. albicans* 菌株間では、プロテアーゼ産生能の弱い G45' 株は全てのマウス系統において 3 日目で菌数が高く、5 日目では減少、中等度の Type-Strain は 3 日目より 5 日目の方が菌数の値が高い傾向を示した。プロテアーゼ産生能が強い G22 株は 3 日目と 5 日目の菌数はほぼ同じ値であった。プロテアーゼ産生能の経時変化; マウス感染前のプロテアーゼ活性は、G45' 株は 0.038 Unit、Type-Strain は 0.18 U、G22 株は 0.28 U であった。この活性強弱は感染 3 日目、5 日目でも同じ傾向を示し、感染前とほぼ同じ値を保っていた。

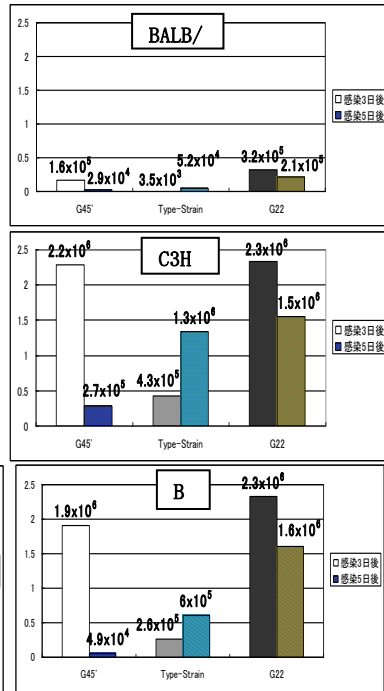
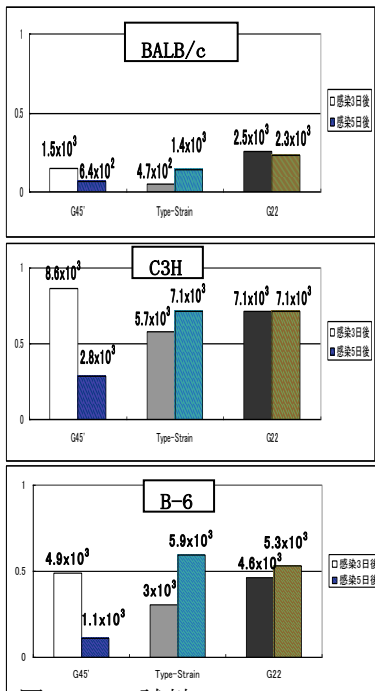


図 4 Swab 試料の *C. albicans* 菌数

図 5 ホモジナイズ試料での *C. albicans* 菌数

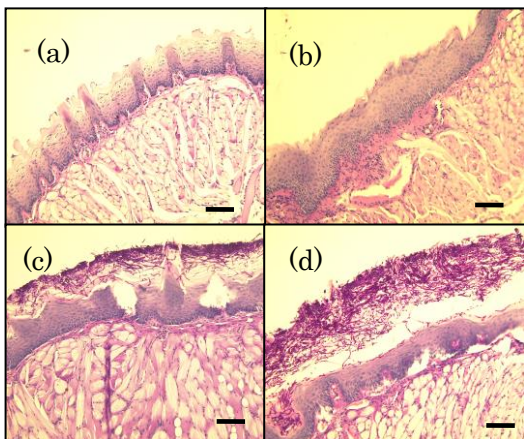


図 6 C3H の感染 3 日目舌病変の PAS 染色病理組織切片 (Scale bar = 100 μm, 倍率 X200) (a) 非感染コントロール (b) G45' 株 (c) Type-Strain (d) G22 株

ホスホリパーゼ産生能の経時変化; *C. alh* 同じ値を示したが、G45' 株は感染 3 日目でや

や上昇し、G45' 株と Type-Strain および G22 株の間で有意差を認めた (P<0.01, P<0.001) が、感染 5 日目では感染前の値に低下し、G45' 株の活性は、感染前と感染 3 日目、感染 3 日目と感染 5 日目の間に有意差を認めた (P<0.01)。舌病変の病理組織学的検討; 図 6 は *C. albicans* 菌数が最高値を示した C3H 系統の感染 3 日目の PAS 染色病理組織像である。Type-Strain を感染させた病理組織像 (図 7-c) ではわずかに *C. albicans* が侵入していたが、角質層深層までは達していなかった。しかし、G45' 株、G22 株では角質層が肥厚しその内部に多くの菌糸が角質層深層まで達し (図 6-b, d)、顆粒層以下の粘膜固有層の厚さが減少していた。しかし、*C. albicans* の侵入は角質層深層までであり、顆粒層への侵入は認められなかった。

【結論】

- ① 舌粘膜表層の *C. albicans* 感染感受性は BALB/c が低く、C3H が高い系統であった。
- ② *C. albicans* の感染はプロテアーゼの強弱に関係なく成立し、プロテアーゼ活性が高いほど *C. albicans* 菌数が高値に維持された。
- ③ プロテアーゼ活性、ホスホリパーゼ活性のどちらか一方が強いと、*C. albicans* が角質層の深部へ侵入した。また、本マウス感染モデルでは、舌の角質層内まで *C. albicans* が侵入したが、顆粒層内への侵入までは至らなかった。

(3) アメロゲニンの *Candida albicans* に対する抗菌効果
歯周組織再生療法に利用されるエナメルマトリックスデリバティブ (EMD) は、ブタエナメル質の構造タンパクであるアメロゲニン (AMEL) やエナメルリン、シースリン (アメロプラスチン、アメリン) を含むが、90% は AMEL である。そこで AMEL をブタエナメルタンパクから抽出、分画し、抗真菌作用について検討した。

【材料および方法】

供試菌株は *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277、*Prevotella intermedia* ATCC 25611、

Aggregatibacter actinomycetemcomitans Y4、*C. albicans* ATCC 18804 を使用した。ゲルろ過クロマトグラフィーの各 AMEL 画分は Laemmli 法電気泳動で確認した (右図)。抗菌効果の測定は CFU で判定した。統計学的解析は、一元配置分散分析と Scheffe の多重比較を用いた。

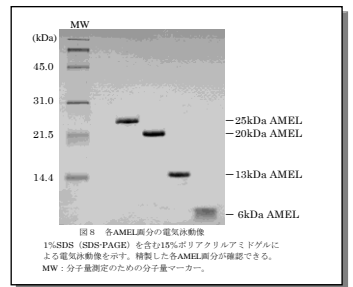


図 8 各 AMEL 画分の電気泳動像
1%SDS (SDS-PAGE) を含む 15% ポリアクリルアミドゲルによる電気泳動像を示す。精製した各 AMEL 画分が確認できる。MW: 分子量測定のための分子量マーカー。

【結果】

各菌株に対する Emd®-Gel (30mg/ml) および PGA の抗菌効果は *P. gingivalis*、*P. intermedia*、*A. actinomycetemcomitans* および *C. albicans* に対して、臨床で用いられる 30mg/ml 濃度の Emd®-Gel は高い抗菌効果を示し、いずれも検出限界以下となった。一方、溶媒である 1%PGA だけでも *P. gingivalis*、*P. intermedia*、*A. actinomycetemcomitans* に対して抗菌効果を示したが、*C. albicans* に対する抗菌効果は認められなかった (表 7)。25kDa、20kDa、13kDa、6kDa 分画 AMEL は、*C. albicans* に対していずれも濃度依存的に高

表 7 各菌株に対する Emd®-Gel および PGA の抗菌効果

| | <i>P. g</i> | <i>P. i</i> | <i>A. a</i> | <i>C. a</i> |
|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Emd®-Gel (30mg/ml) | 0 *** | 0 *** | 0 *** | 0 *** |
| 1%PGA | 0 *** | 0 *** | 0 *** | 4.2±0.16 |
| control | 5.6±0.03 | 5.1±0.06 | 5.1±0.03 | 4.3±0.08 |

P. g: *Porphyromonas gingivalis*, *P. i*: *Prevotella intermedia*
A. a: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *C. a*: *Candida albicans*

(logCFU / ml, 平均値±標準偏差), ***, *p*<0.001 (n=3)

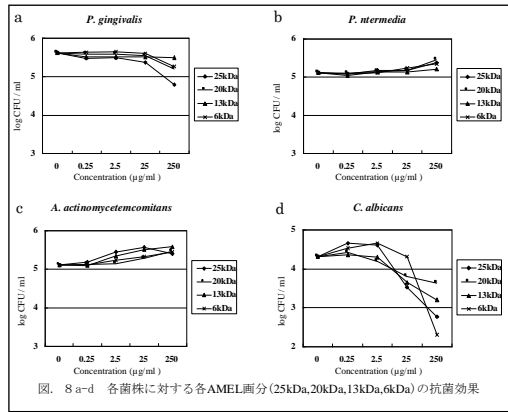


図 8 a-d 各菌株に対する各AMEL画分(25kDa,20kDa,13kDa,6kDa)の抗菌効果

い抗菌効果が認められた(図 8d, 9d)。250µg/ml 濃度の 6kDa AMEL は、他の画分と比較して抗菌効果が高い傾向を示したが、各 AMEL 画分間に有意差は認められなかった。また、250µg/ml 濃度の Emd®-Gel および histatin 5 は、*C. albicans* に対していずれも検出限界以下とした(図 9d)。

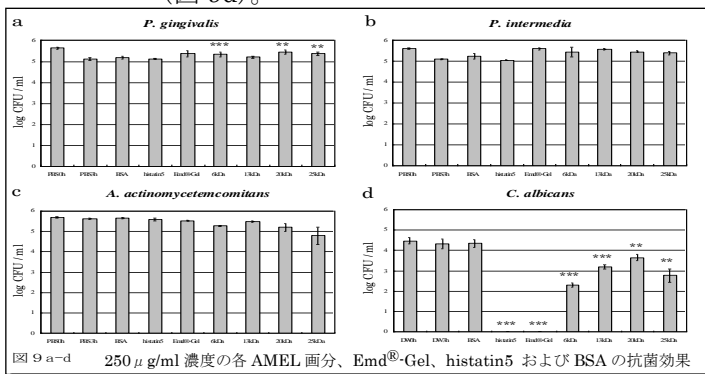


図 9 a-d 250 µg/ml 濃度の各 AMEL 画分、Emd®-Gel、histatin5 および BSA の抗菌効果

【結論】

AMEL は歯周病原細菌の *P. gingivalis* に対して低く *C. albicans* に対して高い抗菌効果を示した。Emd®-Gel の歯周病原細菌に対する抗菌効果はその溶媒である PGA によると示唆された。一方、Emd®-Gel の抗カンジダ作用は、EMD の主要成分である AMEL の抗菌効果によるが、非 AMEL タンパクによる影響も示唆された。

(4) カンジダ症治療のためのネットワーク作成表在性カンジダ症診断基準ならびに抗真菌薬効果判定基準の作成のため、臨床的データと微生物学的データをプロファイル化し、相互関係の分析が必要である。そこで、データ収集のための多施設臨床研究として「口腔カンジダ症の臨床診断ならびに抗真菌薬の臨床効果の適切な判定方法」を評価課題とし、ネットワーク作成を行うこととした。

1. 臨床研究の倫理的実施

本研究はヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則および臨床研究に関する倫理指針(平成 16 年厚生労働省告示第 459 号)を遵守し開始した。

2. 研究方法

「外用抗真菌薬の臨床評価ガイドライン(案)」に準じ、口腔カンジダ症の(1)診断基準、(2)重症度判定基準、(3)臨床効果判定基準、(4)原因菌決定方法、効果判定基準、(5)有害事象、副作用の取扱い基準を設定するため、「歯科口腔外科領域における抗菌薬効果判定基準(新採点法)」に準じて検討した。

3. 対象患者

偽膜性カンジダ症または紅斑性カンジダ症と診断された患者(口腔に白苔・発赤の確認、口腔内の痛み、嚥下困難、ドライマウスなど

の症状を訴え、塗抹標本の鏡検による真菌確認または真菌培養によって *Candida* を検出)の連続抽出。

抗真菌薬投薬有の場合の試験スケジュール

●: 必須観察時期、○: 可能な場合には観察実施

| 調査・観察項目 | 投与開始前 | 投与 1 週間後 | 投与終了時(中止時含む) | フォロー(1ヶ月後) |
|----------|-------|----------|--------------|------------|
| 背景情報 | ● | — | — | — |
| 臨床症状 | ● | ● | ● | ○ |
| カンジダ症重症度 | ● | ● | ● | ○ |
| 真菌学的検査 | ● | ● | ● | ○ |
| 唾液分泌量検査 | ● | ● | ● | ○ |
| 服薬状況 | ● | ● | ● | ○ |
| 有害事象 | ● | ● | ● | ○ |
| 口腔内写真撮影 | ● | ● | ● | ○ |

4. 評価項目

4.1 主要評価項目: 臨床症状改善度

自覚症状(痛み、嚥下困難)および他覚所見(白苔、発赤)項目のスコアを合計する。投与開始前からのスコアの減少率(%)を算出し臨床症状改善度とする。評価項目評点から、減少率による評価と、4段階評価(0: 治癒、1: 改善、2: 不変、3: 悪化)の2種類の結果を得ることができる。

減少率 =

(投与開始前のスコア合計) - (観察日のスコア合計)

投与開始前のスコア合計

4.2 副次評価項目

(1) 有効性の判定(担当医判断)

投与開始前の口腔カンジダ症の重症度及び臨床症状に基づいて、投与後の口腔カンジダ症の治癒状況を総合的に判断する。

1: 著効、2: 有効、3: 無効

真菌学的効果: 減少率を算出し効果とする。

減少率 =

(投与開始前の CFU 合計) - (観察日の CFU 合計)

投与開始前の CFU 合計

(5) 宿主血清学的検査データとの相関

表在性真菌症発症に関わる宿主因子の特定を目的とし、2007 年 11 月~2009 年 3 月に本学付属病院ドライマウス外来患者の口腔カンジダ CFU と血清成分との相関を検討した。被験者は 339 名、平均 63.7 歳(14~88 歳)、女性 282 名、男性 57 名。血清分析は(株)SRL に委託し統計解析は SPSS14.0J を用いた。

【検査項目と結果】

40 項目のカンジダ CFU との相関を検討した。

表. 口腔カンジダ CFU との相関(Spearman)

| | カンジダ CFU | | カンジダ CFU | | |
|-----------------|----------|----------|----------------------|---------|---------|
| 年齢 n=326 | ρ | 0.300** | γGT_γGTP n=326 | | |
| | p | 0.000 | ρ | -0.046 | |
| 安静時唾液量 n=308 | ρ | -0.456** | アミラーゼ n=326 | | |
| | p | 0.000 | ρ | -0.112* | |
| 刺激唾液量 n=306 | ρ | -0.395** | エストラジオール E2 n=326 | | |
| | p | 0.000 | ρ | -0.096 | |
| A_G 比 n=76 | ρ | 0.034 | コルチゾール n=325 | | |
| | p | 0.774 | ρ | -0.072 | |
| ALT_GPT | ρ | 0.022 | ヘマトクリット値 | ρ | -0.122* |

| | | | | | |
|--------------------------|--------|----------|-------------------|--------|---------|
| n=326 | p | 0.688 | n=325 | p | 0.028 |
| AST_GOT n=326 | ρ | 0.164** | リンパ球 n=325 | ρ | -0.025 |
| | p | 0.003 | | p | 0.657 |
| CRP 定量 n=326 | ρ | 0.139* | 血小板数 n=325 | ρ | -0.120* |
| | p | 0.012 | | p | 0.031 |
| DHEA_S n=326 | ρ | -0.252** | 血色素量 n=325 | ρ | -0.140* |
| | p | 0.000 | | p | 0.012 |
| HDL コレステ ロール n=326 | ρ | -0.080 | 血清グルコース n=326 | ρ | -0.066 |
| | p | 0.150 | | p | 0.237 |
| LD_LDH n=326 | ρ | 0.180** | 血清鉄_FE n=326 | ρ | -0.021 |
| | p | 0.001 | | p | 0.699 |
| LDL コレステ ロール n=326 | ρ | 0.027 | 好塩基球 n=76 | ρ | 0.151 |
| | p | 0.628 | | p | 0.193 |
| MCH n=325 | ρ | 0.031 | 好酸球 n=325 | ρ | 0.000 |
| | p | 0.575 | | p | 0.997 |
| MCHC n=325 | ρ | -0.083 | 好中球 n=325 | ρ | 0.012 |
| | p | 0.138 | | p | 0.825 |
| MCV n=325 | ρ | 0.069 | 赤血球数 n=325 | ρ | -0.126* |
| | p | 0.212 | | p | 0.023 |
| マグネシウム n=326 | ρ | -0.058 | 総コレステロール n=326 | ρ | -0.006 |
| | p | 0.300 | | p | 0.909 |
| T3 n=326 | ρ | 0.003 | 総蛋白_TP n=326 | ρ | 0.021 |
| | p | 0.958 | | p | 0.703 |
| T4 n=326 | ρ | -0.035 | 単球 n=325 | ρ | 0.010 |
| | p | 0.527 | | p | 0.864 |
| TSH n=326 | ρ | 0.014 | 尿素窒_BUN n=326 | ρ | 0.108 |
| | p | 0.802 | | p | 0.051 |
| Zn 亜鉛 n=326 | ρ | -0.061 | 白血球数 n=325 | ρ | -0.041 |
| | p | 0.275 | | p | 0.459 |

カンジダ CFU との間で有意に弱い相関が見られたのは 11 項目あり診断バイオマーカーとしての可能性はあるが、明確なカットオフ値を算出できず、今後さらに検討する必要があると示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

①H. Kimori, Y. Nakagawa, K. Yamamoto, T. Ohshima : Establishing the cut-off point for the Candida swab test for daily oral care in dry mouth patients. Oral Therap. Pharmacol. (歯科薬物療法) 28(1), 17-25, 2009 査読有

②塩原康弘、大島朋子：舌における *Candida albicans* 感染に対し影響を及ぼす因子について。鶴見歯学 34(1), 29-39.2008 査読有

③海老沢政人、大島朋子、長野孝俊、五味一博：アメロゲニンの口腔内微生物に対する抗菌効果、歯科保存誌 50(3), 386-394. 2007 査読有

〔学会発表〕(計 9 件)

①渡邊仁史、大島朋子、前田伸子： β ディフェンシンが *Candida albicans* に引き起こす細胞死について。第 21 回日本歯科医学会総会 (パシフィコ横浜) 2008. 11. 14-16.

②中川洋一、前田伸子、木森久人、山本健、山近重夫、斎藤一郎：口腔カンジダ症診断のためのカンジダ検査。第 21 回鶴見医学会 (済生会東部病院) 2008. 11. 8.

③木森久人、山本健、大島朋子、中川洋一、

前田伸子、森戸光彦：高齢者と若年者群におけるカンジダ検出率の比較。第 19 回日本老年歯科医学会学術大会 (岡山コンベンションセンター) 2008. 6. 19-20

④木森久人、山本健、菅武雄、堀江薫雄、奥野典子、門松伸一、水木雄亮、渡邊仁史、大島朋子、前田伸子、森戸光彦：義歯へのカンジダの付着に対する口腔湿潤用ジェルの影響。日本補綴歯科学会 第 117 回学術大会 (名古屋国際会議場) 2008. 6. 7-8.

⑤木森久人、前田伸子、大島朋子、山本健、森戸光彦、山近重夫、長島弘征、保志場大吾、山口健一、石橋克禮、鈴木麻美、瀬戸完一、鶴本明久、山田浩之、斎藤一郎、中川洋一：紅斑性カンジダ症診断のためのツールとしてのスワブ法カンジダ検査の検討。第 62 回日本口腔科学会学術集会 (福岡国際会議場) 2008. 4. 17-18.

⑥大島朋子、中川洋一、木森久人、榎村浩一、前田伸子：日本における健康人および口腔カンジダ症例からの *Candida dubliniensis* の分離頻度と genotype. 第 81 回日本細菌学会総会 (京都国際会館) 2008.3.24-26.

⑦H. KIMORI, K. YAMAMOTO, T. OHSHIMA, H. WATA-NABE, N. YAMAMOTO, N. MAEDA and M. MORITO : Inhibition of Candida Adherence to Denture by Oral Moisturising Gel. JADR 55th Annual Meeting(JADR)(Tsurumi University Memorial Hall, Yokohama), 2007.11.17-18

⑧海老沢政人、大島朋子、長野孝俊、五味一博、深江允、前田伸子、新井高：アメロゲニンの口腔内微生物に対する抗菌効果、鶴見大学歯学会 第 65 回例会 (鶴見大学会館) 2007.7.21

⑨木森久人、山本健、大島朋子、中川洋一、斎藤一郎、前田伸子：カンジダ検査におけるサンプル採取法の違いによる菌検出量の比較。第 18 回日本老年歯科医学会 (岡山コンベンションセンター) 2007.6.19-20

〔図書〕(計 1 件)

ドライマウスの臨床：監修 斎藤一郎 共著 前田伸子、大島朋子、中川洋一、208-216 医歯出版、2007 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田 伸子 (MAEDA NOBUKO)
鶴見大学・歯学部・教授
研究者番号：10148067

(2) 研究分担者

斎藤 一郎 (SAITO ICHIRO)
鶴見大学・歯学部・教授
研究者番号：60147634

中川 洋一 (NAKAGAWA YOICHI)
鶴見大学・歯学部・講師
研究者番号：90148057

大島 朋子 (OHSHIMA TOMOKO)
鶴見大学・歯学部・講師
研究者番号：50233101