

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592348

研究課題名(和文) ドライマウス治療へのアプローチ～口腔症状発現に及ぼすムチンの影響～

研究課題名(英文) Management of dry mouth; Influence of mucin on oral dryness

研究代表者

中川 洋一 (NAKAGAWA YOICHI)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号：90148057

研究成果の概要(和文):

ムチンは湿潤作用と防御作用をもち、その唾液における重要性は認識されているものの、臨床的な検討は必ずしも多くない。本研究の目的は、ドライマウス患者唾液におけるムチン濃度の測定ならびに、ムチン分泌量と口腔へのカンジダ定着との関連性を調べることである。検討結果から、ドライマウス患者における唾液ムチン量は少なく、また唾液中ムチンはカンジダ定着に抑制に働いている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文):

Mucin is a glycoprotein found in saliva, which have multiple activities in maintaining the health of the oral mucosa. The purpose of the study was to investigate the salivary mucin level in the dry mouth patients, and to investigate the relationship between the mucin level and *Candida* colonization on the oral mucosa. The results demonstrated that the salivary mucin was low in the dry mouth patients, and inverse relationship between mucin and *Candida* was recognized, suggesting that salivary mucin inhibit the *Candida* colonization.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：ドライマウス、ムチン、カンジダ

1. 研究開始当初の背景

(1) 臨床的背景

口腔乾燥の訴えは増加傾向にあり、鶴見大学ドライマウス外来には開設から4年半のあいだに2269名が受診した。受診者の訴えはさまざまで、口腔乾燥感以外に痛み、味覚異常、口臭などを主訴とするものも少なくない。また、ドライマウスの原因はさまざまで、シ

ェーグレン症候群や放射線治療に後遺する唾液分泌低下以外に、薬物の副作用、咀嚼筋の衰えなど多くの原因が存在する。

このような診療を通して明らかになった問題点に、唾液分泌量の改善が得られる症例がかぎられていること、唾液分泌低下がないのに口腔乾燥感を訴える受診者が少なくないこと、口腔粘膜の痛みにはカンジダ

の関与が大きいことがある。第1点目の改善策として唾液組成の改善によって乾燥感が改善される可能性が考えられ、また、項目、を惹起する共通の因子として唾液中ムチンの関与が考えられる。

ムチンはさまざまな細胞から分泌される粘液の主成分として考えられてきた粘性物質である。ムチンは反復配列を多数含むコアタンパク質と、末端にシアル酸が結合した多数の糖鎖を持つ高分子量の糖タンパクで、唾液には遺伝的に異なる2種類のムチンが存在する。これらは MUC5B と MUC7 で、前者は高分子ムチン (>4000kDa)、後者は低分子ムチン (<200kDa) である。ムチンは糖鎖の占める割合が高いため、保水性と湿潤性に優れている。このムチンが少ない場合に「唾液分泌低下がないのに口腔乾燥感を訴える」可能性があるのではないかと推察される。一方、MUC7 はカンジダの増殖抑制や抗菌性に関与しているという報告がある (Ogasawara, A, et al: Hyphal Formation of Candida albicans Is Inhibited by Salivary Mucin Biological & Pharmaceutical Bulletin. 30(2):284, 2007, Muralidharan R, Bobek LA.: Antifungal activity of human salivary mucin-derived peptide, MUC7 12-mer, in a murine model of oral candidiasis. J Pept Res. 66(1):82-9, 2005)。このようにムチンの重要性は認識されているものの、臨床におけるムチンの果たす役割については必ずしも明らかではない。

2. 研究の目的

本研究の目的はドライマウスの治療法確立であるが、唾液成分の正常化の観点から、特に湿潤作用と防御作用を有する唾液中ムチンに焦点を絞り、臨床的・基礎的に検討する。

3. 研究の方法

ドライマウス外来受診者を対象とした検討であり、唾液分泌量、唾液中の総蛋白、ムチンを測定し、問診や問診票を用いた受診者の訴えとの関連性を cross-sectional study によって分析する。

(1) ドライマウス患者における診療とデータ収集

鶴見大学附属病院ドライマウス外来では下記のような手順で臨床データを取得する。

- 問診票記入 (心理テストを含む)
- 服用薬の確認
- 検査承諾書記入
- 唾液分泌量測定ならびに唾液採取

(2) ドライマウス患者から得た唾液検体の分析

- 蛋白濃度測定

MUC5B と MUC7 の ELISA による測定

フェノール硫酸法によるムチンの測定・・・簡便な測定法の臨床応用を目的として検討

ノイラミニダーゼの検討

ムチンは糖鎖の末端のシアル酸を有しており、これが口腔微生物によって分解されるとムチンがアグリゲーションを起こし、機能しなくなると考えられる。この分解酵素の唾液中の活性を測定する。

プロテオミクスの手法を用いた唾液タンパクの解析 (ムチン以外の関与の検討)
二次元電気泳動によって唾液タンパクの特性を以下の2群で比較検討

- i) 唾液分泌量が正常で口腔乾燥感を訴えるグループ
- ii) 唾液分泌が正常な健常者グループ

(3) 口腔カンジダ培養検査

舌背から綿棒にて擦過し採取した検体を、クロモアガー培地を用いて培養し、コロニー数をカウントし CFU とする。

4. 研究成果

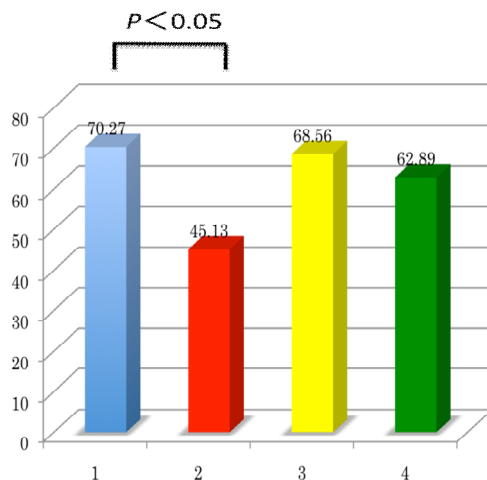
(1) ドライマウス患者における各種検査結果とムチンとの関係の群分けを以下のように行い、唾液中のタンパク、ムチンの量と比較した。

Group1: 唾液量が正常でカンジダが陰性

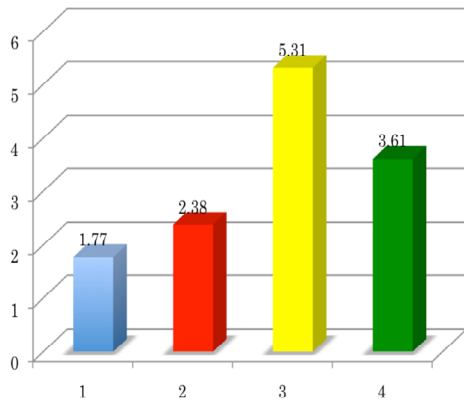
Group2: 唾液量が正常でカンジダが陽性

Group3: 唾液分泌低下がありカンジダが陰性

Group4: 唾液分泌低下がありカンジダが陽性



グラフ 1 : MUC7 濃度 (ng/ml)



グラフ 2 : タンパク濃度 (mg/ml)

グラフ 3 : タンパク量 (mg/10分)

$P < 0.05$

グラフ 4 : MUC7 量 (ng/10min)

グラフ 5 : MUC7 濃度 (ng/mg protein)

グラフ 6 : カンジダ生菌数 (CFU)

図 1 . ドライマウス患者のムチンならびにタンパク濃度

唾液中の MUC7 は、唾液分泌量低下に依存して減少する傾向であった (グラフ 4)。

唾液分泌低下がない群において、カンジダ陽性群はカンジダ陰性群よりも MUC7 濃度が低く、カンジダの口腔内定着阻止に MUC7 が関与していることが示唆された (グラフ 1、グラフ 4)。

唾液分泌低下している群において、カンジダ陽性群とカンジダ陰性群とで MUC7 濃度 (グラフ 1) MUC7 量 (グラフ 4) とともに差がなかった。一方、MUC7 以外の唾液タンパクは、唾液分泌低下していてカンジダ陰性群が多かった (グラフ 2、3)。これらのことから、MUC7 以外の唾液タンパクによる抗真菌作用が存在すると推察された。

(2) プロテオミクスの手法を用いた唾液タンパクの解析

健常者とSS症候群の唾液の重ね合わせ

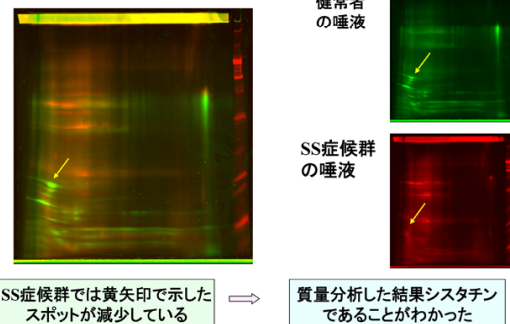


図2 SS症候群と健常者におけるタンパクの発現量の差異

シェーグレン症候群と健常者の唾液タンパクのプロファイルの違いがプロテオミクス解析で明らかとなった。そのタンパクのひとつに、シスタチンがあり、シスタチン

はシェーグレン症候群患者で著明に減少していた(図2)。

そこで、ドライマウス外来患者のシスタチン濃度を測定したところ、このシスタチンはシェーグレン症候群患者だけではなく、非シェーグレン症候群の唾液分泌低下患者においても減少していることが明らかになり、唾液分泌機能異常のキータンパクになっている可能性が示唆された。

以上のような検討から、唾液量やムチン分泌の低下に及ぼすシスタチンの関与の解明の必要性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計4件)

岡本真理子、鴨井美帆、山近重生、今村武浩、山本 健、門松伸一、西岡千賀子、齋藤一郎、前田伸子、中川洋一：口腔カンジダ症の鏡検における定量的評価. 日本口腔科学会. 平成23年4月21日

岡本真理子、鴨井美帆、山近重生、鶴本明久、今村武浩、山本 健、門松伸一、西岡千賀子、齋藤一郎、前田伸子、中川洋一：口腔カンジダ症の診断における鏡検の有用性. 鶴見歯学. 平成22年12月18日

今村武浩、吉野陽子、山本 健、山近重生、齋藤一郎、中川洋一：ドライマウス患者における唾液分泌量とムチン濃度の比較. 日本口腔外科学会. 平成22年10月16日

岡本真理子、鴨井美帆、山近重生、山本健、今村武浩、門松伸一、齋藤一郎、前田伸子、中川洋一：口腔カンジダ症の迅速診断におけるファンギフローラ Y の有用性. 日本口腔粘膜学会. 平成22年7月31日

6. 研究組織

(1)研究代表者

中川 洋一 (NAKAGAWA YOICHI)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号：90148057

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし