

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月21日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791820

研究課題名（和文） シェーグレン症候群の口腔内病変における唾液中 EGF 産生能

研究課題名（英文） The correlation between salivary EGF levels and recurrent oral manifestations in patients with Sjogren's syndrome

研究代表者 東 直人 (AZUMA NAOTO)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：10461039

研究成果の概要（和文）：

シェーグレン症候群（SS）患者の口腔内は乾燥のみでなく、粘膜萎縮、舌乳頭平低化などによるQOL低下を招く。唾液中に含まれ粘膜保護作用や組織修復に促進的な役割を果たすとされるEpidermal growth factor (EGF) のSSの口腔内病変形成における関連性を検討した。その結果、SSでは進行に伴い唾液分泌量のみではなく、唾液中EGF分泌能も低下することが判明した。このような唾液の質および機能の低下が口腔内病変の形成に関与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Salivary epidermal growth factor (EGF) plays a role in healing of damaged oral mucosa. However, the kinetics of salivary EGF in Sjogren's Syndrome (SS) is not well-documented. The objective of this study was to assess changes in salivary EGF and the correlation between salivary EGF and the severity of oral manifestations in patients with SS. Consequently, in SS, not only saliva volume but salivary EGF output remain reduced throughout. Lower salivary EGF level is impairments of the saliva quality associate with recurrent oral manifestations.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

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・歯科放射線学

キーワード：免疫・感染・炎症、シェーグレン症候群、唾液中 EGF

1. 研究開始当初の背景

シェーグレン症候群（SS）患者では口腔乾燥症状に加え、口腔粘膜の萎縮、難治性口内炎、舌乳頭平低化などを生じ、口腔内の疼痛

や強い不快感を伴い quality of life (QOL) が著しく低下する。このような口腔内病変の形成は、主に唾液分泌量の減少による口腔内クリアランスの低下に起因すると考えられ

ている。しかし、唾液には種々の生理機能作用があり、その障害が病態に関与するのではないかと考えられ、特に唾液腺で産生される各種サイトカインのプロファイルの変化が関連することが考えられる。

Epidermal growth factor (EGF) は分子量 6.045 kDa のサイトカインであり、上皮細胞の細胞分裂と増殖を促進する因子として 1962 年に歯牙の萌出や開眼を促進させる物質としてマウスの顎下腺から発見された。(Cohen S. J Biol Chem. 237, 1555-1562, 1962.)

人体では唾液腺（特に耳下腺）と十二指腸のブルネル腺で主に産生される上皮細胞の分裂を促進するサイトカインで、分裂の盛んな消化管上皮の保護作用や組織修復に促進的な役割を果たしていると考えられる。(Brown GL, et al. N Engl J Med. 321, 76-79, 1989.)

この EGF の特性を勘案すると、SS における口腔粘膜や舌表面、歯牙の障害は、SS により唾液腺が破壊された結果、EGF 産生が低下し、唾液中 EGF の減少が関与している可能性を考えた。

2. 研究の目的

SS における口腔内病変の形成と唾液中 EGF の関連性を検討し、将来の治療介入の可能性を追求することを目的とする。

3. 研究の方法

対象は兵庫医科大学リウマチ・膠原病科（以下当科）受診中の SS 患者 47 人から口腔内病変の形成、唾液や EGF の分泌に影響し得る要因を有する者（喫煙者、歯科処置中の者、SS 以外の病態のため口内炎などの口腔粘膜病変を有する者、抗パーキンソン薬・抗うつ剤・抗不安薬などを服用している者、コントロール不良の糖尿病に罹患している者、コントロール不良の逆流性食道炎に罹患している者、頭頸部悪性腫瘍の既往のある者、頭頸部に放射線照射を受けたことがある者など）を除外した 39 人とコントロール群として非 SS 22 人。

尚、SS 症例は本邦厚生省研究班による改訂診断基準(1999 年)およびアメリカ-ヨーロッパ基準(2002 年)をともに満たす症例とした。

(1) 唾液採取および唾液中 EGF 測定

全症例で早朝起床直後（朝食前かつ内服薬服用前）に同一のチューインガム（フリーズンガム（ハイミント）；ロッセ）を用いたガム試験で得た刺激下全唾液を採取した。

この唾液試料を遠心分離して得られた上清を -20 度で凍結保存し、EGF 濃度の測定直前に融解後再度遠心分離して得られた上清を使用して、EGF 濃度を ELISA 法(Quantikine;

R&D System, Minneapolis, MN) で測定した。

口腔内病変の定量的評価法として、口腔内 QOL の指標として諸外国で活用されている OHIP (Oral Health Impact Profile) の日本語版 (OHIP-J) を基に、SS の口腔内病変の評価での有用性が報告されている (Stewart CM, et al. J Am Dent Assoc. 139: 291-299, 2008) OHIP-14 による問診法を実施した。

14 項目のスコア値は、「まったくない」=0、「ほとんどない」=1、「時々」=2、「しばしば」=3、「いつも」=4 と回答肢を数値化し、合算した値をスコアとして算出した。(56 点満点)

ガム試験で得られた刺激下全唾液の質量 (ml/10 分)、唾液中 EGF 濃度と同総量および OHIP-14 スコアの関連性について統計学的解析を行い検討した。

各群の比較には Mann-Whitney U 検定またはカイ二乗検定、Fisher 直接確立試験を、相関の検討は Spearman 順位相関係数を用い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

(倫理面への配慮)

当科診療において、18 歳以上の同意が得られる SS 患者および対照群として健常者を含めた非 SS 患者を対象とする。

外来または入院患者の診療において担当医は患者に説明文書を基に研究内容について十分な説明を行い、文書による同意を得る。20 歳未満の患者では本人および代諾者の文書による同意を得る。

原則として同意が得られた患者を対象とした研究であり、インフォームド・コンセントが得られない認知症や精神疾患などに罹患している患者は含まない。また、18 歳未満の患者も対象としない。

同意が得られた患者の臨床情報を収集し、患者名および患者 ID 番号と関連しない登録 ID 番号を付けることで匿名化を行い、またそのデータはパスワード管理とし、パスワードは研究分担者が管理する。この登録 ID 番号化は連結可能匿名化であるが、登録 ID 以降の統計処理などにおいては患者の個人情報 を特定することは一切できないため患者の個人情報は最大限守られる。

また、研究を完全に終了する場合（引継がれない場合）は、臨床情報を完全に削除する。その場合も、既に匿名化はなされており、個人情報保護の上で問題はない。

本研究は診療時に得られた臨床情報と解析による疫学研究・観察研究のみであり、患者に対して直接的不利益は及ぶことはない。

費用面についてもガム試験、問診票を用いた試験ともに費用は一切発生しない。唾液中サイトカインプロファイルの測定に際しては、当科で購入した測定キットを用い、研究分担者が測定するため、これについても患者

負担となる費用は一切発生しない。その他、SSに関する診療に従来から必要とされる検査、診療についての患者負担費用は従来通り通常保険診療内での支払いとなる。

尚、本研究は兵庫医科大学倫理委員会で審査を受け、承認を得ている。(第758号)

4. 研究成果

SS群では非SS群に比べ有意に唾液量が少なく(7.92 ± 4.54 ml/10分 vs 16.72 ± 5.96 ml/10分; p<0.01)、そしてOHIP-14スコアが高値であった(11.58 ± 9.60点 vs 7.41 ± 7.69点; p=0.047)

SS群では非SS群に比べ唾液中EGF量が有意に少なく(9430.1 ± 8624.5 pg/10分 vs 13238.7 ± 8153.6 pg/10分; p=0.049)、そしてSS群では唾液中EGF量は唾液分泌量と正の相関を示した(rs=0.63, p<0.01)。

ムスカリン受容体刺激薬、副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制剤を服用していないSS患者に限ると、より強い正の相関が見られた(rs=0.80, p=0.001)。

唾液中EGF濃度はSS群で非SS群に比べ有意に高かった(1119.0 ± 873.5 pg/ml vs 779.2 ± 382.5 pg/ml; p=0.04)。しかし、SS群をOHIP-14スコアに基づき口腔内病変の程度の強い群(重症群)と弱い群(軽症群)に二群化したところ、二群間において年齢、罹病期間、唾液量に有意差は認めなかったが、重症群は軽症群と比べ唾液中EGF濃度が低い傾向にあり(884.58 ± 599.21 pg/ml vs 1375.18 ± 975.24 pg/ml; p=0.06)、唾液中EGF量では軽症群、非SS群のいずれと比べても有意に低値であった。(6982.23 ± 6378.64 pg/10分, 12138.89 ± 9303.8 pg/10分, 13238.68 ± 8153.59 pg/10分; p=0.049, p=0.01)

一方、軽症群では唾液中EGF濃度は非SS群より有意に高く(1375.18 ± 975.24 pg/ml vs 779.19 ± 382.49 pg/ml; p=0.005)、しかしEGF量は非SS群と比して有意差は認めなかった(12138.89 ± 9303.8 pg/10分 vs 13238.68 ± 8153.59 pg/10分; p=0.34)。

OHIP-14スコア値と唾液量、唾液中EGF濃度、同EGF量の間にはそれぞれ負の相関を認めた(rs=0.63, p=0.03; rs=0.73, p=0.01; rs=0.75, P=0.01)。

罹病期間と唾液分泌量の間には弱い負の相関が見られたが(rs=0.36, p=0.04)、唾液中EGF量との間にはより強い負の相関が見られた(rs=0.47, p=0.008)。

(考察)

難治性口内炎患者や頭頸部への放射線照射に伴う口腔粘膜障害を生じた患者において唾液中EGF濃度が低いという既存報告(Ino M, et al. Acta Otolaryngol. Suppl. 500,

126-130, 1993, Epstein JB, et al. Cancer. 89, 2258-2265, 2000, Herman BD, et al. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 89, 710-716, 2000, Adisen E, et al. Dermatology. 217, 235-240, 2008)があり、口腔粘膜障害と唾液中EGFの間に強い関連性があると考えられるがSS患者での解析はこれまでなされていない。

今回の結果により、SSでは進行に伴い唾液腺の分泌能が低下すると、唾液分泌量が低下するのみでなく、唾液中へのEGF分泌量も低下することが示された。さらに、唾液中EGF濃度およびEGF量の低下は、唾液分泌量同様またはそれ以上に口腔内QOLの低下に関連することが示された。

EGFの生理機能作用を考慮すると、EGFの低下により口腔内病変の修復の遷延化が生じ、SSではそのため口腔内病変の慢性化・重症化・難治化を来すものと考えられる。つまり、SSにおける口腔内病変の形成には唾液分泌量低下による口腔内クリアランス低下に加え、唾液中EGFの低下という唾液の質および機能の低下が関与している可能性が示唆された。

難治性の潰瘍性大腸炎においてEGFを注射投与することで腸管粘膜病変が改善したことが報告されているが、SSにおいてもEGFを含嗽などにより粘膜面に接触させることによって口腔内病変を治療できる可能性があると思われた。

(結論)

SSでは進行に伴い唾液分泌量のみでなく、唾液中EGF分泌量も低下する。この唾液の質の低下がSSにおける難治性の口腔内病変の形成や口腔内QOLの低下に関与していることが示唆された。

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)

[学会発表] (計2件)

#1 東直人、片田圭宣、北野幸恵、西岡亜紀、関口昌弘、北野将康、松井聖、佐野統. シェーグレン症候群における口腔内病変と唾液中EGFの関係. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会/東京/2012年4月26日

#2 東直人、片田圭宣、北野幸恵、西岡亜紀、関口昌弘、北野将康、松井聖、佐野統. シェーグレン症候群における口腔内病変と唾液中EGFの関係. 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会/東京都/2011年11月10日 (アレルギー. 60(9-10), 1327, 2011)

6. 研究組織

(1)研究代表者

東 直人 (AZUMA NAOTO)
兵庫医科大学・医学部・助教
研究者番号：10461039

* 研究協力者

片田 圭宣 (KATADA YOSHINORI)
国立病院機構大阪南医療センター
アレルギー科医長

神田 ちえり (KANDA CHERI)
兵庫医科大学・医学部・大学院生

北野 幸恵 (KITANO SACHIE)
兵庫医科大学・医学部・実験助手

西岡 亜紀 (NISHIOKA AKI)
兵庫医科大学・医学部・医員
研究者番号：90412030

関口 昌弘 (SEKIGUCHI MASAHIRO)
兵庫医科大学・医学部・助教
研究者番号：50528958

北野 将康 (KITANO MASAYASU)
兵庫医科大学・医学部・助教
研究者番号：00412031

松井 聖 (MATSUI KIYOSHI)
兵庫医科大学・医学部・非常勤医師
研究者番号：00291815

佐野 統 (SANO HAJIME)
兵庫医科大学・医学部・主任教授
研究者番号：00196304