

令和 2 年 11 月 25 日現在

機関番号：32703

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15796

研究課題名(和文)花粉症のアレルギー性鼻炎症状改善における歯科保存治療の応用に関する研究

研究課題名(英文)The effect of salivary secretion with mouthguard use on seasonal allergic rhinitis symptom

研究代表者

石井 信之(Tani-Ishii, Nobuyuki)

神奈川県歯科大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：20163610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究目的は、MG使用によるSAR症状改善効果を分析し、SAR症状発症における唾液の役割を明らかにすることであった。MG装着前およびMG装着後の唾液流速を分析し、唾液中のIgAおよびIgG4の量を測定した。MG装着によるアレルギー性鼻炎症状と唾液各因子の相関関係を評価した。唾液中IgA濃度はSAR患者で有意に減少。SAR症状はMG装着により有意に改善された。唾液流量および単位時間当たりのIgA総量は、MGの使用と共に有意に増加したが、IgG4総量は変化しなかった。MG装着は、単位時間当たりのIgA総量を増加させることによってSARのアレルギー性鼻炎症状を改善することが明らかにされた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

スギ花粉症と唾液中分泌型IgAの関連について報告された研究発表では、花粉症群は未発症群に比べ分泌型IgA量は統計学的に有意に低値であったことが報告され、花粉症患者唾液には分泌型IgAの減少が花粉症の症状発現に関与している可能性が示されていた。本研究では、口腔内マウスピース装着によって唾液流量を増加させ、口腔内に分泌型IgAが多く分泌されることによって、花粉症に伴う慢性鼻炎症状(くしゃみ、鼻水、鼻つまり、涙目等)の軽減と改善が明らかにした最初の研究報告である。本研究による花粉症改善効果の立証は、国民病といわれる花粉症の治療と改善に大きく寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to analyze the SAR symptom improvement effect of MG use and to clarify the role of saliva on SAR symptom development.

We analyzed saliva flow rate pre-MG and post-MG, and we measured the amount of IgA and IgG4 in saliva. We assessed the correlation with allergic rhinitis symptoms by MG use. We collected data from consecutive patients at Kanagawa Dental University Hospital. Saliva flow rate, IgA concentration, and IgG4 concentration pre-MG and post-MG were measured. SAR symptoms were examined according to three total nasal symptom score (T3NSS). Results: It was revealed that salivary IgA concentration was significantly decreased in SAR patients compared to controls. SAR symptoms significantly improved with MG use. The saliva flow rate and IgA flow rate significantly increased with MG use, although IgG4 rate did not change. Conclusions and Clinical Relevance: MG use may be beneficial for improving SAR symptoms of SAR by increasing IgA flow rate.

研究分野：歯科保存学

キーワード：粘膜免疫 分泌型IgA 口腔内マウスピース 花粉症 T3NSS

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) 季節性アレルギー性鼻炎 (SAR) 患者の数は日本で毎年増加しており、SAR は高い罹患率および生活の質 (QOL) への影響のために社会問題と考えられている。SAR を持つ人は、いくつかの種類の花粉アレルゲン (草や木の花粉由来のものなど) に反応する可能性があり、くしゃみ、鼻づまり、鼻や鼻咽頭のかゆみなどの症状を経験している。
- (2) 唾液中 IgA による粘膜免疫は季節性アレルギー性鼻炎 (SAR) 症状の改善に関連する可能性があることが示されており、歯科治療でマウスガード (MG) を使用している患者では唾液流量増加による SAR 症状の改善が報告されている。

2. 研究の目的

- (1) 上気道感染症の一つあるスギ花粉症 (季節性アレルギー性鼻炎を主症状とする) と唾液分泌型 IgA の関連についての研究報告では、花粉症群は未発症群に比較して分泌型 IgA 量は統計学的に有意に低値であることが報告され、花粉症患者唾液は分泌型 IgA の減少が花粉症アレルギー発現に関与している可能性が示された。一方、歯ぎしりによる歯牙破折防止や外傷性咬合発症防止のためにマウスピースを装着した患者において、唾液流量の増加とともに花粉症アレルギー症状の軽減報告があることから本研究の立案に至った。本研究は、歯科治療時のマウスピース装着とアレルギー性鼻炎 (スギ花粉、ハウスダスト、PM2.5 等) の症状改善との相関関係を明らかにし、歯科保存治療からアレルギー性鼻炎の治療法確立を目的とした。
- (2) 本研究の目的は、MG 使用による SAR 症状改善効果を分析し、SAR 症状発症における唾液の役割を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) Study design

本研究は、無作為、待機リスト管理、非盲検、単一施設で実施した。

本研究は、2017年3月6日に大学病院医療情報ネットワーク臨床試験登録簿 (UMIN-CTR: UMIN000026428) に登録し、神奈川歯科大学倫理委員会の承認 (No. 319) 後に実施した。さらに、研究実施に当たっては1995年のヘルシンキ宣言 (2013年にブラジルで改訂された) に準拠して実施された。インフォームド・コンセントはすべての被験者 (患者、ボランティア参加者) から得られた。すべての被験者は神奈川歯科大学附属病院から連続して募集した。被験者は、明確な意識とコミュニケーション能力を示す急性疾患のない被験者が選択された。試験は2017年から2018年までの2期間の花粉尘飛散時期に実施した。

(2) Study participants

2017年3月から2018年4月まで、臨床的にSARと診断された患者を募集し、すべての試験参加者から書面によるインフォームド・コンセントを得た。これらの用紙は神奈川歯科大学の倫理委員会によって承認された。試験参加者は受諾前に同意書の内容を理解し、試験参加者と治験責任医師の両者が日付を記入し署名した。参加者全員に、試験への参加を拒否しても自分の医療が影響を受けることはないこと、および試験期間中いつでも自由に同意を取り下げることができることを通知した。

中等度から重度の症状を伴う2年以上のSAR (日本スギ花粉症) の病歴があり、3つの鼻炎症状合計スコア (3TNSS、陽性スコアが定義されている) を有する18~65歳の健常者 (3TNSS > 6) をSAR被験者とした。本研究の有効性評価を阻害する鼻疾患または感染症 (急性鼻炎、慢性鼻炎、鬱血性副鼻腔炎、慢性鼻副鼻腔炎、またはインフルエンザ関連鼻炎) を有する際には被験対象者から除外した。喘息、高血圧、および真性糖尿病を含む全身性疾患を患っている場合、またはアレルギー性鼻炎を治療する目的で鼻手術および免疫療法を受けている場合も対象は除外された。担当医によって不適格と見なされた対象も除外された。以下の投薬は試験期間を通して禁止した: ステロイド注射、経口または鼻腔内ステロイド、抗ヒスタミン薬、すべてのロイコトリエン受容体拮抗薬、精神安定剤、または局所鬱血除去薬。

(3) Study protocol

2017年 (3月6日~4月30日) と2018年 (3月1日~4月30日) の2季節に、神奈川歯科大学附属病院の連続患者からSAR患者38名、非アレルギー健康人対象者8名を含む唾液データを採取した。花粉シーズンは神奈川県環境センターの花粉尘散布観測結果 (<http://www.agri-kanagawa.jp/sinrinken/12kahun/index.htm>) に基づいて決定した。2017年と2018年の3月から4月までの期間は、木の花粉の「シーズン中」と見なし、神奈川県厚木市 (神奈川県中心部) で、ダラム法により樹木の花粉数を測定した。2017年の3月6日から4月30日まで (56日) の総花粉数は34,044 / cm² で、3月7日の最大の報告散布量は437 / cm² を示した。2018年は3月1日から4月30日 (61日) 総花粉量は28,199 / cm² で、前のシーズンを少し下回った。この季節に記録された最高の花粉の広がりには3月1日の3,548 / cm² を示した。

3 MG を用いて SAR のアレルギー性鼻炎症状を予防する可能性を示した。歯ぎしりや顎関節症のない被験者は MG を使用するのが難しいため、本研究では下顎前歯に厚さ 1.0mm の硬質熱可塑性の MG を使用した。

昼間および就寝中に MG を着用するには、口腔内の異物感を最小にするために、薄い MG が望ましい。MG の使用を中止する被験者数を最小限にするために、厚さ 1.0mm の硬質熱可塑性ポリ

エチレンテレフタレート(PETG)シート(Elcoflex(登録商標)1.0mm、ERCODENT J80462 LOT10780 ドイツ)を製造元の推奨に従って製作した。

本研究では、被験者の不快感や咬合干渉を最小限にするために、1.0 mm の PETG シートを使用した。本研究で使用した MG は、歯の移動に関与せず、正常咬合位に影響しない。本研究では、下顎前歯の印象模型を使用し製造元の推奨に従って、すべての MG を真空成形機(Elcopress®Vacuum Adapter、ERKODENT Co.、ドイツ)を使用して製作した。製作された MG は、下顎前歯歯冠部をの最大隆起部に沿ってトリミングした。被験者の快適さを確実にするため、被験者は就寝中および日中においてアレルギー症状を伴う期間全てに MG を装着した。MG の装着期間は1週間に規定し、内服薬の服用を装着期間中は中止した。MG 装着による SAR 症状抑制効果は、アレルギー性鼻炎症状(3TNSS)の変化、唾液流の測定、1週間の MG 配置の前後における唾液採取サンプルによって使用される唾液 IgA および IgG4 の測定から評価した。

3TNSS によるアレルギー性鼻炎症状の評価

SAR 症状の評価は、4段階評価を用いて 3TNSS によって行われた。MG の有効性は、くしゃみ、鼻漏、鼻づまりの3つの症状スコアの合計(0~12)として定義される、治療期間にわたるベースラインからの 3TNSS の平均変化として測定した。MG の前後の 0~4 のスケール。日本におけるアレルギー性鼻炎の管理のための実践的ガイドライン(PG-MARJ)2017[23, 24]によると、これら3症状は SAR の主症状である。

唾液流量の測定

被験者は、唾液採取の2時間以上前に朝食を取るよう指示をした。

唾液流量の測定は、試験管を用いて唾液を1分間採取した。唾液採取は、MG 装着前後に口腔内を洗浄後、日内変動を考慮して午前10時から午前12時の間に設定した。さらに、唾液分泌速度(g/min)の測定には、試験管を含む総重量から試験管重量を差し引き、唾液の比重を1.0として、唾液の流速を g/min で示した。採取唾液は3,000rpm で10分間遠心し、分注して-80で保存した。

唾液中 IgA の測定

唾液試料中の IgA 濃度は、製造元の指示に従って、唾液分泌型 IgA indirect enzyme immunoassay kit(#1~1602、Salimetrics、State College, PA, USA)を使用して測定した。唾液サンプルおよび各濃度の IgA 標準物質を抗体酵素複合体と共に90分間、室温で培養した。その後、培養したサンプルを96well assay plateに移した。plateを室温で90分間培養した。洗浄緩衝液で6回洗浄した後、plateを室温で45分間、暗所で TMB 基質溶液で発色させた。反応を停止溶液で停止した。吸光度は、Infinite M200 Pro(TECAN、Männedorf、Switzerland)を用いて450 nm の波長で測定した。

唾液 IgG4 の測定

試料中の唾液 IgG4 濃度を、製造者のプロトコルに従って、Human IgG4 AlphaLISA immunoassay kit(#AL310、Perkin Elmer、Waltham, MA, USA)によって分析した。5X希釈唾液サンプルおよび各濃度の IgG4 標準を96-well white microplates に添加し、Anti-IgG4 Acceptor beads と Biotinylated Antibody と共に23、60分間培養した。洗浄せずに、反応混合物を23の暗所で30分間 Streptavidin Donor beads で発色。プレートを680nm の励起波長および EnSpire(Perkin Elmer)を用いて615nm に設定し検出した。

統計解析

本研究は被験者46名(SAR グループ n = 38、非 SAR コントロールグループ n = 8)の測定値を比較検討した。統計解析は分散分析(SAR および非 SAR による ANOVA)または共分散分析(共変量としての MG 前および MG 後治療を含む)を用いて、定量的ベースラインおよび治療転帰について治療群を比較した。有意な結果が観察された場合には、Bonferroni adjustment and Turkey post-hoc test を使用後、対比較を処置群間で行った。使用した computer software は SPSS、version 13.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA)であった。すべての統計検定は両側検定であり、有意水準は5%に設定された。

4. 研究成果

(1) 3TNSS による SAR 症状の評価

一次効力については、1週間後の MG を有する SAR 患者において 3TNSS スコアの減少は有意に変化した。SAR 群における MG 前ベースライン(9.4 ± 2.3)から MG 後 (3.8 ± 1.8) への 3TNSS の平均変化は MG 前 (2.0 ± 1.2) から MG 後 (0.9 ± 0.9) に高い値を示した。SAR 患者群は非 SAR 対照群と比較して MG 後に 3TNSS の有意な減少が示された ($p < 0.001$)。

(2) 唾液パラメータ唾液流量

SAR 患者群の唾液流量 (0.46 ± 0.44 g/min) は、対照群 (0.70 ± 0.24 g/min) と比較して有意に減少した ($p < 0.001$)。SAR 群における MG による刺激唾液流量は、MG 前ベースライン (0.46 ± 0.44 g/min) から MG 後 (0.71 ± 0.52 g/min) ($p < 0.001$) へと有意に増加したが、対照グループのそれは MG 前から変化しなかった ($p < 0.001$)。対照群 MG 後前 (0.69 ± 0.24 g/min) から MG 後 (0.84 ± 0.21 g/min) に有意な変化は認められなかった。

(3) 唾液中 IgA 濃度と流速

SAR 患者群の唾液中 IgA 濃度 (9.4 ± 2.2 μ g/ml) は、対照群 (19.2 ± 8.0 μ g/ml) よりも有意に低かった ($p < 0.001$)。しかしながら、SAR 群における MG による刺激唾液 IgA 濃度は、MG 前ベー

スライン(9.4±2.2 µg/ ml)から MG 後(9.5±3.9 µg/ ml)に変化せず、対照群の MG 前 (19.2±8.0 µg/ ml) から MG 後 (21.5±17.0 µg/ ml)に変化が認められなかった。

一方、刺激された唾液中 IgA 流速は、MG 投与前(9.4±2.2 µg/ ml)から投与後 (28.7±15.7 µg/ ml)に有意に増加した(p<0.001)。正常群では、MG 後(19.2±8.0 µg/ ml)から MG 後(24.9±24.7 µg/ ml)(p<0.001)に有意な変化は認められなかった。

(4) 唾液 IgG4 濃度と流速

SAR 患者群の唾液 IgG4 濃度(20.6±41.5ng /ml)は、対照群(21.3±28.0ng / ml)と比較して変化しなかった。SAR 群における MG 刺激唾液 IgG4 濃度(ng / ml)は、MG 装着前のベースライン(20.6±41.5ng / ml)から MG 装着後(8.7±16.9ng /ml)を示し、統計学的有意差は認められなかった。MG 刺激の唾液 IgG4 の流速は、MG 装着前(20.6±41.5 ng /min)から MG 装着後(20.0±38.4 ng /min)に変化せず、対照群も MG 装着前 (21.3±28.0 ng /min)から MG 装着後(13.4±17.0 ng /min)に僅かに減少したが統計学的有意差は認められなかった。

<引用文献>

1. Okamoto Y, Horiguchi S, Yamamoto H, Yonekur S, Hanazawa T. Present situation of cedar pollinosis in Japan and its immune responses. *Allergol Int* 2009;58:152-62
2. M. Okuda M. Epidemiology of Japanese cedar pollinosis throughout Japan. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;91:288-96
3. Sakashita M, Hirota T, Harada M, Nakamichi R, Tsunoda T, Osawa Y, et al. Prevalence of allergic rhinitis and sensitization to common aeroallergens in a Japanese population. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;151: 255-61
4. Horak F, Zieglmayer UP. Azelastine nasal spray for the treatment of allergic and nonallergic rhinitis. *Expert Rev Clin Immunol* 2009;5:659-69.
5. van Cauwenberge P, Bachert C, Passalacqua G, Bousquet J, Canonica GW, Durham SR, et al. Consensus statement on the treatment of allergic rhinitis. *European Academy of*

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

1. N.Tani-Ishii, K.Muromachi, N.Mutoh, J Suzuki, K Shimojima, R Fujimaki, H Kezuka, T Koba, K Ta. Effect of salivary secretion with mouthguard use on seasonal allergic rhinitis symptom improvement. *J of Oral Biosciences*. 62, 205-211, 2020. (査読有り)
<https://doi.org/10.1016/j.job.2020.04.003>

- 2.原賀裕、室町幸一郎、武藤徳子、鈴木二郎、下島かおり、藤巻龍治、宇都宮舞衣、木庭大槻、石井信之 . マウスガードによる季節性アレルギー性鼻炎症状改善に関する研究 - スギ花粉症患者の唾液性状解析
日本歯科保存学会雑誌 63、280-286 , 2020. (査読有り)
<https://doi.org/10.11471/shikahozon.63.280>

[学会発表](計 4 件)

1. The Study on Salivary Secretion in Allergic Rhinitis Symptom Improvement
N.Tani-Ishii, K.Muromachi, N.Mutoh IADR July 26,2018
2. 花粉症のアレルギー症状改善における唾液分泌に関する研究
石井信之、室町幸一郎、武藤徳子 アレルギー学会 千葉 6月24日 2018
3. 花粉症のアレルギー症状改善における歯科保存治療の応用
石井信之、毛塚 甫、三輪知志、下島かおり、室町幸一郎、鈴木二郎、武藤徳子
第52回神奈川歯科大学学会総会 2017年
4. 花粉症のアレルギー性鼻炎症状改善における歯科保存治療の応用に関する研究
石井信之、毛塚 甫、三輪知志、下島かおり、室町幸一郎、武藤徳子、鈴木二郎
第146回日本歯科保存学会春季学術大会 2017年

[産業財産権]

出願状況(計 1 件)

名称：マウスピース

発明者：石井信之

権利者：石井信之

種類：特許

番号：特許願 2016-223259 号

出願年：平成 29 年

国内外の別：国内

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:伊藤 寿樹

ローマ字氏名:(ITOU toshiki)

所属研究機関名:神奈川歯科大学

部局名:大学院歯学研究科

職名:教授

研究者番号(8 桁):00284753

研究分担者氏名:武藤 徳子

ローマ字氏名:(MUTOH noriko)

所属研究機関名:神奈川歯科大学

部局名:大学院歯学研究科

職名:准教授

研究者番号(8 桁):40510433

研究分担者氏名:室町 幸一郎

ローマ字氏名:(MUROMACHI koichiro)

所属研究機関名:神奈川歯科大学

部局名:大学院歯学研究科

職名:助教

研究者番号(8 桁):50637072

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。