

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2005 年～2008 年

課題番号：17591976

研究課題名（和文）

口腔乾燥症に対する血管新生療法を用いた唾液腺機能の再生に関する研究

研究課題名（英文）

Research on the regeneration of the saliva gland function in Xerostomia using

研究代表者

外山 三智雄（TOYAMA MICHIO）

日本歯科大学・新潟生命歯学部・准教授

研究者番号：00217564

研究成果の概要：

1) シェーグレン症候群と口腔乾燥症との鑑別診断の手段として唾液腺シンチグラフィの集積状態、貯留評価、刺激評価を併用した診断方法が有効であり、さらに、動態曲線初期相の分析を加味することで診断精度を高める可能性が示めされた。

2) 血管新生剤 VEGF-A 投与は障害されたラット顎下腺の回復を促進する傾向がみられたが、統計学的な裏付けは得られなかった。従って、今回の投与方法では障害顎下腺を再生させることはできなかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	700,000	0	700,000
2006 年度	500,000	0	500,000
2007 年度	800,000	240,000	1,040,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
総計	3,300,000	630,000	3,930,000

研究分野：医歯薬分野

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：口腔乾燥症、シェーグレン症候群、唾液腺シンチグラフィ、唾液腺機能、ラット顎下腺、放射線照射、血管新生促進剤、マイクロフォーカス CT

1. 研究開始当初の背景

シェーグレン症候群や加齢、放射線治療後にみられる唾液腺の破壊・萎縮の発症メカニズムはまだ解明されておらず、その予防法や治療法も確立していない。現状では局所の対症療法が主流で、そのほかに全身的に 1) 外分泌腺分泌を促進する薬剤、2) 副腎ステロイド剤、3) 免疫調節・抑制剤、4) 漢方薬などが用いられているが、その効果は芳しくない。唾液腺の破壊・萎縮による唾液分泌機能障害は腺組織だけではなく、局所の血管網の変化も大きな原因となる。そこで、近年その実用性が証明されてきた血管新生促進

剤に注目した。そこで、血管新生剤の応用により、分泌機能が低下し障害を受けた唾液腺の血管網が改善されれば、唾液腺機能再生に適用できないかと考えた。

2. 研究の目的

(1) 口腔乾燥症に対する唾液腺シンチグラフィの診断基準を確立する。
(2) 血管新生促進剤 VEGF 剤による障害唾液腺に対する組織と分泌機能の再生の可能性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 唾液腺機能評価の確立

口腔乾燥患者に対して、初診時に以下の検査を行い、シェーグレン症候群の確定が得られた症例と口腔乾燥症を比較した。a)口唇腺の生検、b)口腔水分計、c)Saxon テスト、d)唾液腺造影検査、e)唾液腺シンチグラフィ、f)血清検査(抗 SS-A 抗体、抗 SS-B 抗体)、g)超音波検査、h)MRI 検査。

シェーグレン症候群における唾液腺シンチグラフィの診断基準を明らかにするため、以下の評価を行った。

評価方法：集積状態を図1のように集積正常、集積なし、集積低下、集積増加と分類し、評価とした。

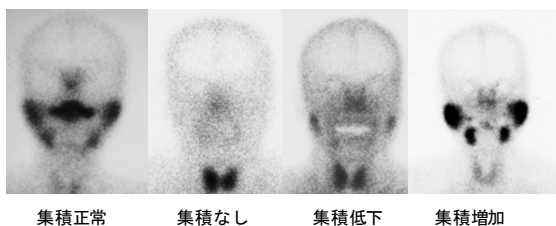


図1 集積状態の評価

動態曲線におけるパラメータを以下のように評価した。集積機能を示す最大貯留係数(唾液腺と鼻腔の集積比)、分泌機能を示す刺激分泌係数(クエン酸刺激前後の集積比)を求めた。また、刺激分泌係数、最大貯留係数をもとに、本学の健常者の平均値(耳下腺の最大貯留係数 1.90 ± 0.40 、刺激分泌係数 1.40 ± 0.50 、顎下腺の最大貯留係数 1.40 ± 0.50 、刺激分泌係数 1.40 ± 0.20)と比較して、過度亢進(2SD以上上昇)、亢進(1SD以上2SD未満の上昇)、正常($\pm 1SD$ 未満)、低下(1SD以上低下)とし、それぞれ貯留評価、刺激評価とした。

また、動態曲線初期相に注目し、シェーグレン症候群の診断基準に利用できるかどうかを検討するため、動態曲線において集積がプラトーに達するまでの動態曲線における、ある時間 t の集積数 $R(t)$ を $R(t) = C(1 - e^{-kt})$ と近似した。 C は最大集積数(プラトー時の集積数)、 k は定数である。 C が $1/2$ の時の時間 $T1/2$ (半減時間 min) と、この時の定数 $k1$ ($1/\text{min}$) を求めた。

以上の項目を用いてシェーグレン症候群の評価に関する併用診断についても検討した。

(2)血管新生促進剤 VEGF を用いた障害唾液腺に対する再生の実験

実験動物は Wister 系ラットを用いた。対象臓器は顎下腺とした。ラット顎下腺に対して放射線照射、血管新生促進剤を用いた。放射線照射は 3 MeV の直線加速器を用いた。顎下

腺内血管網の評価は、エックス線 CT、マイクロフォーカス CT および墨汁法による microangiography、組織標本で行った。以下の検討を行った。

- ① 放射線照射後のラット顎下腺内血管網の観察：ラットを予備飼育後、顎下腺のみに放射線照射量を段階的に増量して照射した。観察期間は7日後、14日、30日後に各画像検査および墨汁法による microangiography、組織標本にて顎下腺内血管網を評価した。
- ② 血管新生促進剤投与群のラット顎下腺内血管網の観察(投与量の検討：適正放射線照射量(15Gy)を照射した後、血管新生促進剤を顎下腺周囲4箇所 $0.166 \mu\text{g}$ ($0.332 \mu\text{g/ml}$)、 $0.332 \mu\text{g}$ ($0.664 \mu\text{g/ml}$)の2種類の投与量で投与した。観察期間は7日後、14日、30日後に各画像検査および墨汁法による microangiography、組織標本にて顎下腺内血管網を評価した。
- ③ 血管新生促進剤投与群のラット顎下腺内血管網の観察(投与方法の検討)：適正放射線照射量(15Gy)を照射した後、血管新生促進剤、 $0.332 \mu\text{g}$ ($0.664 \mu\text{g/ml}$)を顎下腺周囲4箇所、顎下腺導管内の2種類の投与方法で投与した。観察期間は7日後、14日、30日後に各画像検査および墨汁法による microangiography、組織標本にて顎下腺内血管網を評価した。

4. 研究成果

(1)唾液腺機能評価の確立

①集積状態の結果

集積状態は耳下腺、顎下腺ともにシェーグレン症候群では集積なし、口腔乾燥症では正常、集積増加を示すものが多かった(図2、3)。

②貯留評価・刺激評価の結果

貯留評価・刺激評価は耳下腺、顎下腺ともにシェーグレン症候群は低下、口腔乾燥症は正常、過度亢進が多かった(図4-7)。

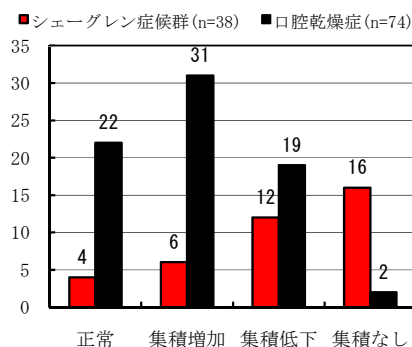


図2 集積状態の結果(耳下腺)

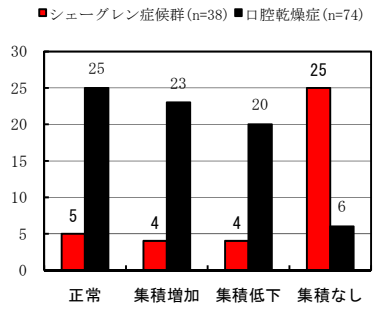


図3 集積状態の結果（顎下腺）

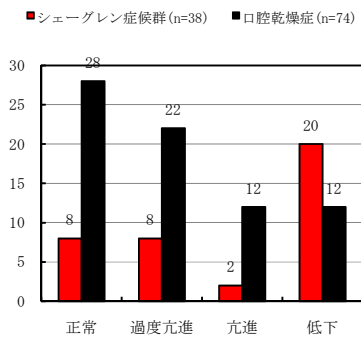


図4 貯留評価の結果（耳下腺）

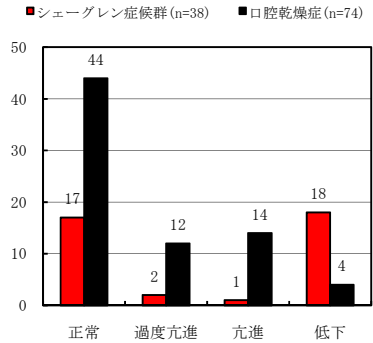


図5 貯留評価の結果（顎下腺）

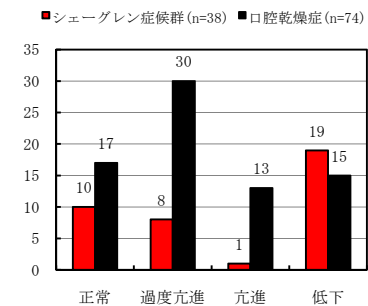


図6 刺激評価の結果（耳下腺）

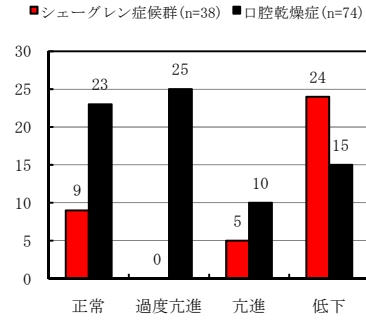


図7 刺激評価の結果（顎下腺）

③ シェーグレン症候群の評価に関する唾液腺シンチグラフィの併用診断の結果

集積評価、貯留評価、刺激評価の診断精度を向上するため、以下の併用診断が最も精度が高かった。まず集積評価で複数腺の異常をシェーグレン症候群とし、次に貯留評価で複数腺の過度亢進、亢進をシェーグレン症候群から除外し、さらに顎下腺の刺激評価で過度亢進、亢進をシェーグレン症候群から除外する。その結果：感度 89.5%、特異度 73.0%、正診率 78.6%が得られた。このような併用診断はシェーグレン症候群の診断方法として有効と思われた。

④ 唾液腺シンチグラフィにおける動態曲線初期相を用いたシェーグレン症候群と口腔乾燥症との比較の結果

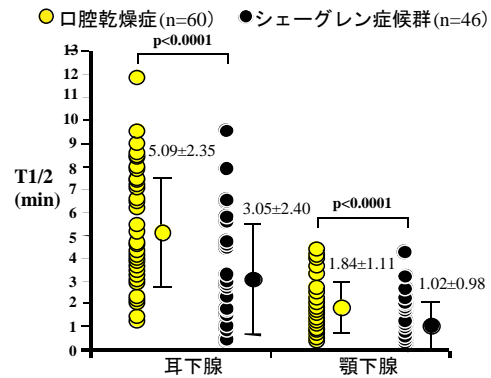


図8 T1/2の結果

1)耳下腺の T1/2、k1 はそれぞれ、シェーグレン症候群 3.05±0.35、0.52±0.08、口腔乾燥症 5.09±0.30、0.19±0.02 だった。両者の間にはそれぞれ有意差 (p<0.0001、p<0.0001) を認めた。2)顎下腺の T1/2、k1 はそれぞれ、SJS 1.02±0.15、1.50±0.17、乾燥症 1.84±0.14、0.54±0.05 だった。両者の間にはそれぞれ有意差 (p<0.001、p<0.0001) を認めた。

耳下腺・顎下腺ともにシェーグレン症候群は T1/2 が短く、k1 が大きく、早期にプラトーに達するものが多く、逆に乾口腔乾燥症は T1

1/2 が長く、k1 が小さく、なかなかプラトーに達しないものが多いことが示された (図 8,9)。この結果から、動態曲線初期相の評価はシェーグレン症候群と口腔乾燥症との鑑別診断に利用できることが示唆された。

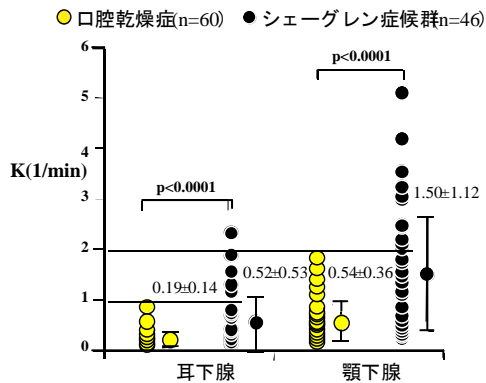


図 9 k1 の結果

(2)血管新生促進剤 VEGF を用いた障害唾液腺に対する再生の実験

①放射線照射後のラット顎下腺内血管網の観察の結果

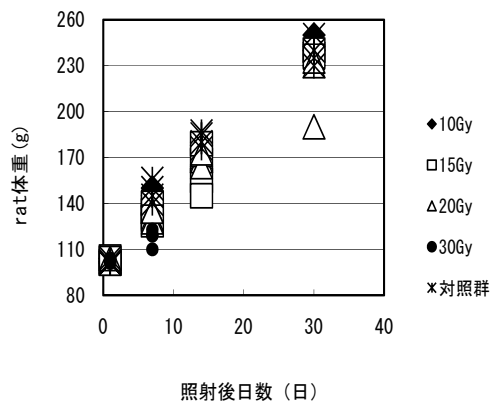


図 10 放射線照射後のラット体重の変化(g)

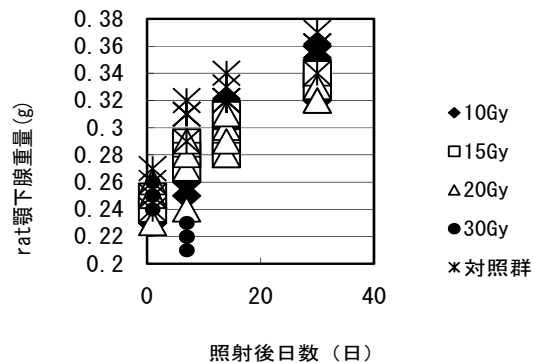


図 11 放射線照射後のラット顎下腺重量の変化(g)

1) 30Gy 照射群は照射後 1 週目で 4 匹すべて死亡した (図 10)。2) 10Gy、15Gy、20Gy の各照射群はそれぞれ照射 7 日後から 14 日後に血管障害 (数の減少、断裂、狭小化など) がピークを迎え、30 日後は回復傾向がみられた (図 11)。

3) 10Gy 照射群は血管障害が少なく、回復も早く、対照群と同程度の体重まで回復した。4) 15Gy より 20Gy 照射群の方が 14 日目までは血管障害が著明であったが、両群は共に 30 日後に回復した。しかし、対照群より体重減少がみられた (図 12)。

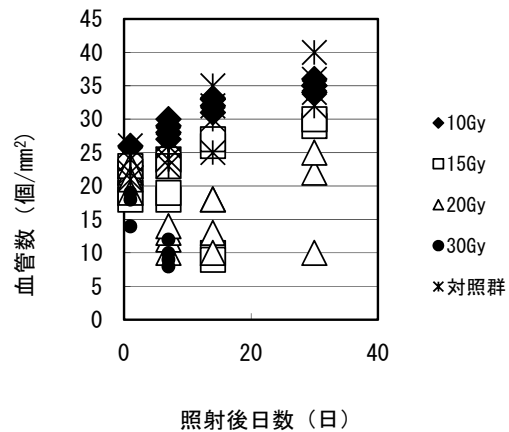


図 12 放射線照射後のラット血管数の変化 (個/mm²)

以上より、顎下腺の volume が小さく頸部皮下直下にあるので前方 1 門照射が有効であった。顎下腺に対する放射線障害およびその回復に関する適正投与量は 15-20Gy と思われる。また血管障害のピークは 7-14 日であるので回復期間を考慮して、30 日程度の観察期間が必要と思われた。

②血管新生促進剤投与群のラット顎下腺内血管網の観察(投与量の検討の結果)

1) VEGF 投与群と対照群では顎下腺重量変化には相違がみられなかった (図 13)。2) 対照群は、投与群に比べ血管障害 (数の減少、断列、狭小化) が残存する傾向がみられたが、血管数には両者の間に有意な差はなかった。3) 0.166 μg 投与群と 0.332 μg 投与群の血管数では、両者の間に有意な差はみられなかった (図 14)。

VEGF 投与は障害された顎下腺の回復を促進する傾向がみられたが、統計学的な裏付けは得られなかった。

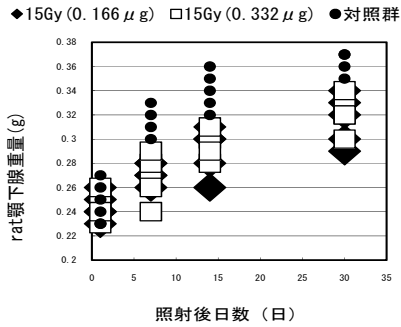


図 13 放射線照射後のラット顎下腺重量の変化(g) (投与量の相違)

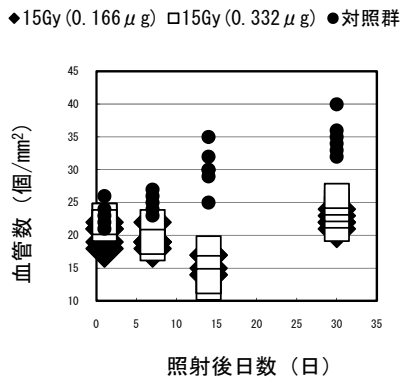


図 14 放射線照射後のラット血管数の変化 (個/mm²) (投与量の相違)

③血管新生促進剤投与群のラット顎下腺内血管網の観察(投与方法の検討の結果)

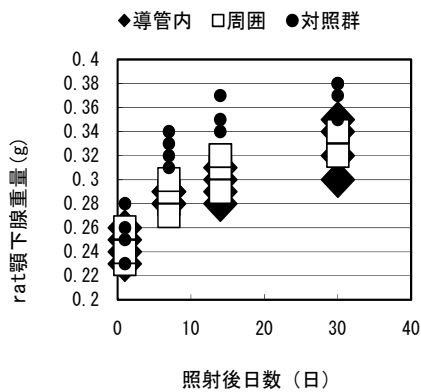


図 15 放射線照射後のラット顎下腺重量の変化(g) (投与方法の相違)

1) 導管内投与群と顎下腺周囲投与群の顎下腺重量の変化では両者の間に有意な差はみられなかった(図 15)。2) 対照群は、投与群に比べ血管障害(数の減少、断列、狭小化)が残存する傾向がみられたが、血管数には両者の間に有意な差はなかった。3) 導管内投

与群と顎下腺周囲投与群では両者の間に有意な差はみられなかった(図 16)。

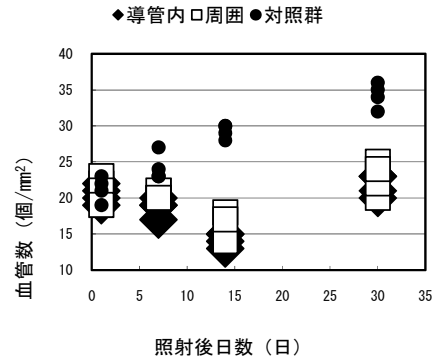


図 16 放射線照射後のラット血管数の変化 (個/mm²) (投与方法の相違)

総括: VEGF 投与は障害された顎下腺の回復を促進する傾向がみられたが、統計学的な裏付けは得られなかった。VEGF 投与方法でも統計学的有意差は得られなかった。従って、障害顎下腺を再生させるには、単に血管新生促進剤 VEGF を投与するだけでなく、ベクターを交いするなどの遺伝子的手法を導入することが必要と思われた。

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 2 件)

- 1) 外山三智雄、土持 眞: CT・MRI時代における非血管特殊造影検査の意義 カスターすべき読影のポイント 1. 頭頸部 1-3 唾液腺造影 日独医報 53 巻 第 1 号 28-35、2008、査読無し
- 2) 外山三智雄: 【リウマチ性疾患の画像診断の進歩】 シェーグレン症候群における唾液腺シンチグラフィの評価(解説) リウマチ科 36 巻 4 号 366-373、2006、査読無し

[学会発表] (計 13 件)

- 1) Michio Toyama、Raweenwan Arayasantiparb、Takaaki Oda、Mikiko Sue、Ayako Kameta、Yoshihiko Sasaki、Kazuhide Hayama、Makoto Tsuchimochi、Study of the diagnostic method for Sjogren syndrome using sialoscintigraphy、日本歯科放射線学会第 13 回臨床画像大会 第 7 回アジア国際顎顔面歯科放射線学会、2008 年 11 月 21 日、奈良新公会堂
- 2) 外山三智雄、織田隆昭、佐々木善彦、羽

山和秀、土持 眞、唾液腺シンチグラフィにおける動態曲線初期相を用いたシェーグレン症候群と口腔乾燥症との比較、第 48 回日本核医学会総会、2008 年 10 月 24 日
千葉幕張メッセ

3) 外山三智雄、佐々木善彦、織田隆昭、Rawewan Arayasantiparb、諏江美樹子、亀田綾子、羽山和秀、土持 眞、唾液腺シンチグラフィにおける動態曲線初期相を用いた唾液腺疾患の分析、第 17 回日本シェーグレン症候群研究会、2008 年 9 月 20 日
岐阜グランドホテル

4) 外山三智雄、Rawewan Arayasantiparb、諏江美樹子、亀田綾子、佐々木善彦、羽山和秀、土持 眞、唾液腺シンチグラフィにおける動態曲線初期相を用いた唾液腺疾患の分析、第 49 回日本歯科放射線学会、2008 年 5 月 17 日、名古屋国際会議場

5) 外山三智雄、諏江美樹子、亀田綾子、佐々木善彦、土持 眞、唾液腺シンチグラフィにおける動態曲線初期相を用いたシェーグレン症候群の分析、第 62 回日本口腔科学会総会、2008 年 4 月 18 日、福岡国際会議場

6) 外山三智雄、織田隆昭、佐々木善彦、羽山和秀、土持 眞、シェーグレン症候群の評価に関する唾液腺シンチグラフィの併用診断の検討、第 47 回日本核医学会総会、2007 年 11 月 5 日、仙台国際センター

7) 外山三智雄、諏江美樹子、亀田綾子、佐々木善彦、土持 眞、唾液腺シンチグラフィを用いたシェーグレン症候群の診断精度の検討、第 61 回日本口腔科学会総会、2007 年 4 月 19 日、神戸国際会議場

8) 外山三智雄、織田隆昭、佐々木善彦、土持 眞、口腔乾燥症とシェーグレン症候群における唾液腺シンチグラフィ所見 左右耳下腺・顎下腺の比較、第 26 回日本画像医学会、2007 年 2 月 23 日、東京フォーラム

9) 外山三智雄、織田隆昭、佐々木善彦、羽山和秀、土持 眞、唾液腺シンチグラフィによるシェーグレン症候群の診断基準の検討、第 46 回日本核医学会総会、2006 年 11 月 9 日、かごしま県民交流センター

10) 外山三智雄、織田隆明、諏江美樹子、亀田綾子、佐々木善彦、羽山和秀、土持 眞、唾液腺シンチグラフィの動態曲線パターンを併用したシェーグレン症候群の診断基準の検討、第 15 回日本シェーグレン症候群研究会、2006 年 9 月 29 日、鶴見大学記念ホール

11) 外山三智雄、織田隆昭、諏江美樹子、亀田綾子、佐々木善彦、羽山和秀、土持 眞、唾液腺シンチグラフィの動態曲線パターン

によるシェーグレン症候群の診断基準の検討、第 47 回日本歯科放射線学会総会、2006 年 5 月 12 日、日本歯科大学生命歯学部

12) 外山三智雄、諏江美樹子、亀田綾子、佐々木善彦、土持 眞、唾液腺シンチグラフィを用いたシェーグレン症候群の診断精度の検討、第 60 回日本口腔科学会総会、2006 年 5 月 11 日、名古屋国際会議場

13) 外山三智雄、織田隆昭、堅田 勉、佐々木善彦、羽山和秀、土持 眞、唾液腺シンチグラフィを用いた片側性顎下腺唾石と代償性機能変化との関連性の検討、第 45 回日本核医学会総会、2005 年 11 月 11 日、東京都江戸川区タワーホール船堀

〔図書〕(計 2 件)

1) 外山三智雄、診断と治療社、シェーグレン症候群の診断と治療マニュアル、2009 年、p65-71

2) 土持 眞、外山三智雄、医歯薬出版、歯科臨床における画像診断アトラス、2008 年、p181

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

1) Medical Tribune、vol.39、No.23 (2006 年 6 月 8 日発行)、p15 に第 60 回日本口腔科学会総会 (2006 年 5 月 11 日) にて発表した「唾液腺シンチグラフィを用いたシェーグレン症候群の診断精度の検討」に関する内容が国内ニュースとして紹介された。

6. 研究組織

(1)研究代表者

外山 三智雄 (TOYAMA MICHIO)

日本歯科大学・新潟生命歯学部・准教授

研究者番号：00217564

(2)研究分担者

那須 優則 (NASU MASANORI)

日本歯科大学・生命歯学部・准教授

研究者番号：50130688

佐々木 善彦 (SASAKI YOSHIHIKO)

日本歯科大学・新潟生命歯学部・助教

研究者番号：70257054

(3)連携研究者

なし