

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10459

研究課題名(和文) 唾液の物理化学的総合機能解析による口腔環境の包括的再構成法の開発

研究課題名(英文) Development of a comprehensive reconstruction of the oral environment by detailed physicochemical and functional analysis of saliva

研究代表者

小関 健由 (KOSEKI, Yakeyoshi)

東北大学・歯学研究科・教授

研究者番号：80291128

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：唾液の物理化学的機能解析では、成人歯科健診時に収集された刺激唾液の横断的解析、及び、同一者における粘稠度の違う安静時唾液の成分解析を行った。唾液成分は、各種の糖タンパク質が口腔環境を決定する重要な役割を担うが、刺激唾液では高分子と低分子の領域の唾液タンパク質が全身状態と関連する可能性を示した。また、頭頸部の放射線治療時の時系列での唾液の縦断調査では、唾液の物理的性状の変化と唾液成分としての多糖類や糖タンパクの濃度の大きな変化を観察し、口腔内環境の変化を如実に反映していることが示された。得られた結果から唾液の物理的生化学的性状に近似した人工唾液を検討し、口腔内環境の再構成に必要な因子を考察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔は、日常生活の『食べて・話し・笑う』ことを担い、この口腔の活動を支えているのが唾液である。唾液は多機能な液体であるが、唾液を口腔内に取り出すと物性が変化する理由で、唾液の本質的な機能的解析が進んでいない。一方で、高度の口腔乾燥を訴える高齢者は3割と報告され、そこで問題となる口腔症状は、損なわれた唾液の多機能性を示している。医科患者の周術期口腔管理では、頭頸部の放射線治療や化学療法を実施する患者は治療開始後から唾液分泌量が極端に低下し、唾液の構成要素内容も大きく変化する。本研究では、口腔環境の唾液による再構築を考え、これらの患者の治療や予防に関する情報を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：In the physicochemical function analysis of saliva, cross-sectional analysis of stimulated saliva collected at the time of adult oral health examination and component analysis of resting saliva with different viscosity in the same person were performed. In salivary components, various glycoproteins play an important role in determining the oral environment. Our study indicated that several salivary proteins in the high and low molecular weight might be associated with general health condition in stimulated saliva. In addition, in a longitudinal survey of saliva during radiotherapy of head and neck cancer, changes in the physical properties of saliva and the concentrations of polysaccharides and glycoproteins were observed. From the obtained results, we tried to prepare artificial saliva that approximated the physical and biochemical properties of saliva, and considered the factors necessary for the reconstruction of the oral environment.

研究分野：予防歯科学

キーワード：唾液 口腔環境 物理的性状 再構成 人工唾液

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔は、日常生活の『食べて・話し・笑う』ことを行い、この口腔の機能的な活動を支えているのが唾液である。唾液の機能は、口腔環境・口腔機能の維持として湿潤作用、自浄作用、抗菌作用、生体機能として、味覚の媒体作用、排泄作用、齲蝕予防として緩衝作用、再石灰化作用といった、数多くの役割を担う。これらの機能は、どれ一つ欠けても口腔環境を維持することが叶わず、日常生活のQOLを著しく低下させる。

この様に唾液は多機能な液体であり、容易に採取できることから唾液成分分析等の生化学的性状が研究の対象になるが、唾液を口腔内に取り出すと、短期間に物性が変化する理由で、特に口腔が活発に活動・運動している時の唾液の本質的な機能的役割の解析が進んでいない。これは、生体材料である粘液の特徴である。一方で、日常生活で高度の口腔乾燥を訴える高齢者は3割と報告され、その口腔症状である、口腔の不潔、味覚障害、咀嚼嚥下の困難、不快感、擦過傷の増加、発語の不良、粘膜の痛み、口臭等は、損なわれた唾液の多機能性を示している。

口腔乾燥症を訴える患者に対しては、現在根治となる治療法は無い状態で有り、対症療法として、唾液腺マッサージを含む健口体操や、多種類の内服薬を常用している方の内服薬の整理による薬による唾液分泌抑制の解除等が行われている。更に、一時的には人工唾液の口腔内補充や保湿剤による口腔環境の改善が行われ、患者によっては口腔内の問題が寛解される大きな福音となっている。しかしながら、保湿剤は塗布時の口腔内の違和感や保湿剤自体の味等の問題で、患者にとって必ずしも心地よく使用できる物ではないのが現状である。よって、湿潤した口腔内環境を再現できる、正に唾液そのものを模した物性を持ち、味のない使い勝手の良い保湿剤の開発が強く求められている。

現在、臨床で使われている保湿剤や洗口剤では、グリセリンを添加することによってその物性を唾液に近づけようとしているが、味もあり唾液本来の湿潤作用や保湿効果にはほど遠いのが現状であり、その他ヒアルロン酸やでんぷん等の添加が試みられるも、種々の問題が生じて使いにくい状態である。また、食品添加物としての増粘物質は種々存在するが、口腔内微生物によって分解/代謝される等の問題があり、口腔内環境に必ずしも適してはいない。これらの添加物を使用して唾液に模して口腔環境を再構築しようとしても、唾液本来の物性の指標をまず定める必要がある。

この唾液の物性が関わる機能解析・評価法は、研究が著しく遅れている。特に口腔内環境関連機能である湿潤作用や潤滑作用に関しては、評価法さえも存在しない。また、代表研究者が所属する大学病院予防歯科では、東北大学病院の入院患者の周術期口腔管理を中心に外来を運営しているが、頭頸部の放射線治療や化学療法を実施する患者は治療開始後から唾液分泌量が極端に低下し、唾液の構成要素も大きく変化する。唾液減少から直ぐ口腔内環境関連の機能、特に湿潤作用・潤滑作用が低下し、生体では代替機能が存在せず闘病中の患者を苦しめる。これらの患者の口腔管理の要は、唾液の口腔内環境関連の機能を支援する「保湿」である事を日々実感し、治療の要としている。唾液の持つ当たり前の機能が口腔内を「唾液で保湿」して、多くの障害や機能不全を防止している。この唾液の物性解析(物理学的性状研究)こそが、今必要な研究分野である。

2. 研究の目的

本研究では、唾液の新しい物性解析から、これまでの研究で集約した生化学的・微生物学的・免疫学的性状を繋ぎ、生体内で実際に起きている口腔環境内の現象を再構築して唾液の物性や生化学的な役割を検証すると共に、不明であった口腔内環境関連の唾液機能の理解から、口腔環境の改善方法と、口腔と全身の健康を維持し日常生活のQOLを高く口腔内から維持する手法を考案することを目的とする。この研究で唾液の生体内での全機能を網羅して把握・理解することが可能となり、この結果から導かれる、本来の自身の唾液、もしくは、保湿剤・人工唾液等を用いた口腔リハビリテーション手法は、口腔乾燥症を訴える患者のみならず、医科の処置に伴う周術期口腔管理を受ける患者、更には、口腔疾患の予防を考える小児から高齢者・有病者までの完全な口腔機能を発揮させ、口腔内疾病や生涯を予防し、『食べて・話し・笑う』生き甲斐とQOLを支えることが可能となる。

3. 研究の方法

刺激唾液の成分の横断調査として、節目成人健康診査時に行った地域歯科健診実施で同意を得られた受診者から、全身状態の情報と共に、採取時間と全身状態の条件を統一した600名余の刺激唾液を採取した唾液ライブラリの詳細を検討した。則ち、ストックされた採取時間や食事の

ないといった条件を均一にして採取された刺激唾液は、グラジュエントゲルを用いた SDS-PAGE により各分子量の成分に分離され、銀染色にて糖鎖、及び、蛋白バンドの両方を経時的に染色・記録した。さらに、特徴的なバンドを網羅するように、代表的な採取刺激唾液を混合して銀染色時のコントロール唾液を制作し、これを基準にして、各回の染色時の濃度を同一濃度になるように経時的な染色撮影画像を選択・規格化して規格化された濃度を計測した。この結果を、複数の標準化指標を用いて、その内容を詳細に検討した。さらに、コントロール唾液を中心に、この巨大な網羅的唾液タンパク質データベースに網羅的解析を検証した。得られた個人の唾液各成分の補整濃度と、唾液採取時に同時に行った全身の生化学的検査結果や生活習慣の調査から把握できる全身状態との関連の詳細を検討した。

同一個人からの縦断的な刺激唾液の採取には、東北大学病院で頭頸部の放射線治療を実施する患者の唾液分泌量検査時に実施した。則ち、患者の周術期口腔管理に於いて、術前の唾液と術後の経時的な唾液の比較を行った。頭頸部の放射線治療や化学療法を実施する患者は、治療の進行に伴って唾液分泌量の著大な減少を伴う場合が多い。この調査から、唾液の経時変化と口腔内症状の関連を明らかにし、唾液の枯渇時の口腔内の苦痛を和らげる人工唾液等の要件を考えた。

4. 研究成果

本研究期間には、COVID-19 感染症の世界的流行が発生し、研究への影響が多であった。COVID-19 の伝播様式は、唾液の微細滴が空气中で乾燥した飛沫核感染と、唾液そのものの接触による感染が主であり、唾液中に COVID-19 が存在する可能性のある場合は、全ての唾液が感染源になると考えなければならない。これは、スタンダードプレコーションと呼ばれる医療従事者の実施する感染対策の最重要な考え方である。このことから、唾液に関連する臨床研究は、完全な感染対策を講じない限り、実施する事は不可能になった。本研究事業でも、地域成人歯科健診時に採取する予定であった唾液も、健診自体が中止となったり、唾液を採取して実施する検査が、唾液飛散の可能性を考慮して、検査場所の隔離と消毒等の対策を講じなければならず、感染のリスクを考慮して唾液採取を実施できない事態が発生した。しかしながら、このような状況でも代換え案を講じて、唾液ライブラリを活用して研究の実施を継続する事ができた。

刺激唾液の成分の横断調査として、地域歯科健診実施時に同意を得られた 600 名余の受診者の刺激唾液のライブラリを再精査した。分離された泳動パターン各バンドを 34 分画に再配分し、各種校正後の分画濃度を得た。この分画濃度と全身状態の指標との関連を解析した結果から、低分子の分画に BMI、旧 CPI 区分最大値、唾液 pH と相関する分画、中等度の分画に HgA1c、唾液分泌量と相関する分画、高分子の分画から HgA1c、高血圧治療中の状態に相関する区画があることが見出された。これらの分画は、関連する因子を多変量解析すると共に、質量分析装置 (MASS) を用いた唾液の解析から該当分画には数百種類のタンパク質が含有されていることから、その内容に関して詳細を検討中である。

また、同一個人による経時的な刺激唾液の解析には、東北大学病院で頭頸部の放射線治療を実施する患者の唾液分泌量計測時に採取された刺激唾液を用いた。唾液は日常生活では、分泌速度により安静時唾液から刺激唾液へと、その成分と物理的特性が大きく変化することが知られている。この唾液の分泌を外的要因で減少させられた状況下にあるのが頭頸部の放射線治療を行った場合の唾液である。更に治療に伴って唾液に炎症由来成分が混合することも考えられている。一連の唾液の解析から、唾液分泌量が低下すると高分子成分が増加し、これらは糖タンパクの可能性が示された。安静時唾液の分泌時にも、同様な高分子成分の増加が認められるので、この時の経時的な変化の解析を継続した。

唾液物性に関する研究では、毛細管を用いた唾液物性計測を試みたが、唾液の不均一性 (粘度等の部分部分による偏り) の問題から計測値が同一唾液でも安定しなく、定量的な物性測定値を臨床の場で得る事が難しいことから、唾液の均質化を試みた。しかしながら、臨床では口腔乾燥症の患者から採取可能な唾液量は数十 μL の微量で有り、この微細な量で気泡の入らない粘稠な唾液の混和方法で、臨床の現場に応用が可能な現実的な方法は見いだせなかった。以上から、微量の臨床サンプルで唾液物性を測定することは、曳糸性は NEVA Meter を使用して測定可能であるものの、基本的な粘性を含めた物性の計測の難しさを示した形になった。生化学的手法は、分子生物学的手法や網羅的解析手法の進歩から、微細なサンプル用での解析が可能となってきているが、物性の研究は様々な課題を解決しながら進めなければならない事が考えられた。

今回の研究を通して、口腔内を満たし口腔環境を規定する唾液は、全身と口腔の健康に大きく関与することが示唆され、特に湿潤作用を中心とした更なる唾液の機能の解析とその口腔健康

と全身の健康、さらに日常生活の QOL の向上への応用に関する研究が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tanda N, Washio J, Kamei T, Akazawa K, Takahashi N, Koseki T.	4. 巻 249
2. 論文標題 Professional Oral Care Reduces Carcinogenic Acetaldehyde Levels in Mouth Air of Perioperative Esophageal Cancer Patients: A Prospective Comparative Study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tohoku J Exp Med.	6. 最初と最後の頁 75-83
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1620/tjem.249.75.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanda N, Hoshikawa Y, Sato T, Takahashi N, Koseki T.	4. 巻 40
2. 論文標題 Exhaled acetone and isoprene in perioperative lung cancer patients under intensive oral care: possible indicators of inflammatory responses and metabolic changes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomed Res.	6. 最初と最後の頁 29-36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2220/biomedres.40.29.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suenaga H, Iikubo M, Tamahara T, Dodo M, Peck C, Koseki T, Harigae H, Sasaki K.	4. 巻 66
2. 論文標題 Dental care using an oral appliance to support hematopoietic stem cell transplantation for NK/T cell lymphoma, nasal type, with palatal perforation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Prosthodont Res.	6. 最初と最後の頁 323-334
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2186/jpr.JPR_D_20_00270.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 渡辺 俊吾, 岩永 賢二郎, 百々 美奈, 石河 理紗, 飯嶋 若菜, 加藤 翼, 丹田 奈緒子, 相田 潤, 小関 健由	4. 巻 70
2. 論文標題 HbA1cと歯周ポケットの状態および喪失歯数の疫学的関係	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 口腔衛生学会雑誌	6. 最初と最後の頁 129-135
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 高橋 志麻, 結城 泉, 安部 ちづる, 大場 智美, 舟橋 良子, 半田 茜, 木下 淳博, 品田 佳世子, 高阪 利美, 眞木 吉信, 小関 健由	4. 巻 12
2. 論文標題 スケーリングおよびルートプレーニング時の歯面にかかるスケーラーの操作力に関する研究	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本歯科衛生教育学会雑誌	6. 最初と最後の頁 38-46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 渡辺 俊吾, 岩永 賢二郎, 百々 美奈, 飯嶋 若菜, 石河 理紗, 玉原 亨, 加藤 翼, 織部 令奈, 丹田 奈緒子, 小関 健由
2. 発表標題 唾液タンパク組成と全身状態の関連性
3. 学会等名 口腔衛生学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	丹田 奈緒子 (TANDA Naoko) (00422121)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	
研究分担者	岩永 賢二郎 (IWANAGA Kenjiro) (20448484)	東北大学・歯学研究科・助教 (11301)	
研究分担者	小関 一絵 (KOSEKI Ichie) (40400262)	東北大学・歯学研究科・大学院非常勤講師 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------