

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 8 月 20 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659949

研究課題名(和文)ドライマウスの診断方法の確立～唾液を用いた新しい鑑別診断方法～

研究課題名(英文)Saliva as a potential tool for diagnosis of dry mouth including Sjogren's syndrome

研究代表者

中村 誠司(Nakamura, Seiji)

九州大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：60189040

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：シェーグレン症候群(SS)患者は健常者と比較して、炎症性・Th1およびTh2タイプの濃度が有意に高かった。しかし、その他のドライマウスについては、健常者と比較していずれの分子においても有意差は認めなかった。また、SS患者をリンパ球の浸潤程度で重度・軽度の2群に分けて比較したところ、重度の症例では、IL-4、IL-17の有意な増加を認めた。sIgA濃度については、SSと放射線性では健常者より高く、薬物性では健常者より低かったが、いずれも有意差は認めなかった。これらの結果から、唾液中サイトカイン濃度測定は、SSの診断および病態把握に有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Th1 and Th2 cytokines from Sjogren's syndrome (SS) patients were significantly higher than controls. Furthermore, Th2 cytokines were closely associated with strong lymphocytic accumulation in salivary glands from SS patients, while Th1 and Th17 cytokines were negatively associated. Secretory IgA (SIgA) levels were not significantly different between all patient groups and controls. Chromogranin A (CgA) levels from XND patients were significantly higher than controls.

These results suggest that the measurement of cytokines, CgA, and SIgA in saliva might be useful for the diagnosis of xerostomia and also to reveal disease status.

研究分野：外科系歯学

科研費の分科・細目：口腔外科学一般

キーワード：ドライマウス 唾液 サイトカイン シェーグレン症候群

## 1. 研究開始当初の背景

近年、口腔に対する意識の向上、社会的ストレスの増加、内服している薬物の増加、高齢化などの社会的背景により、ドライマウスに対する社会的な関心も高くなっている。また、ドライマウスは、様々な口腔粘膜疾患や齲蝕の増加などを引き起こす以外にも、唾液量の低下により摂食嚥下障害を引き起こし、誤嚥性肺炎の原因にも繋がる疾患であることが認識され始め、医療の現場でもドライマウスに対する関心が高まってきている。

これまで、ドライマウスの原因と分類についてはいくつかの報告があるが、統一された分類がなかった。通常、ドライマウスの検査には、ガムテストやサクソテストといった刺激時唾液分泌量 (SWS) の測定と、欧米で一般的な吐唾法やロールワッテ法といった安静時唾液分泌量 (UWS) 測定の両方が用いられる。また、自覚的口腔乾燥症状の客観的評価には、VAS 法が推奨されている。いずれの測定法もドライマウスの診断に重要と考えられるが、各測定法の整合性や正確性についてはいまだ十分な検討がなされていない。そのため多くの施設では、1999年に改訂されたシェーグレン症候群 (SS) の厚労省診断基準をもとに SS の除外診断を行ったのちにドライマウスの分類を進めている。しかし、その検査項目の中には実施可能な施設が限られている唾液腺造影検査や侵襲性が高い口唇腺生検といった検査が含まれており、経時的かつ繰り返し実施可能な検査は、唾液分泌量測定と血液検査のみである。このような現状から、増加するドライマウス患者の最初の受け皿となる一般歯科医院では、SS の診断基準を用いたドライマウスの診断を行うのは困難であり、併せて適切な治療が行えないことが多い。よって実際の一般歯科医院でも、ドライマウスを簡便かつ迅速、そして正確に診断する方法の確立が求められている。

## 2. 研究の目的

本研究では第一に、多くのドライマウス患者のうち、受診頻度の高い「唾液腺自体の機能障害」を原因とした SS 患者と放射線性ドライマウス (RD) 患者、「神経学的な機能障害」を原因とした神経性・薬物性ドライマウス (DDN) 患者を対象として、当院で通常行っているサクソテスト、吐唾法、VAS 法による評価など各検査法の有用性について検討した。

次に本研究では、簡便かつ非侵襲的であり、繰り返し採取が行えるというメリットがある唾液に着目し、その中に含まれているサイトカインやストレス関連物質を解析することでドライマウスの新たな診断方法および経時的な病態把握のモニターになり得るかを検討することにした。

われわれはこれまで、ドライマウスの代表的疾患である SS について、病変局所におけ

るヘルパー T (Th) 細胞から産生されるサイトカインに着目して研究を行っており、SS の発症と病態進展には種々のサイトカインが関与していることを報告してきた。

そこで本研究では、簡便かつ非侵襲的で、繰り返し採取できる唾液を利用し、唾液中サイトカイン濃度の測定をすることで、ドライマウスの診断と鑑別が可能であるかを検討した。また、SS の病態把握には現在のところ口唇腺生検が最も有用であるが、繰り返し行うことはできない。そこで SS を軽度と重度の 2 群に分け、軽度を SS 発症初期、重度を SS 進行期の病態モデルと仮定し、2 群の唾液中サイトカイン濃度を比較することで、口唇腺生検に代わって SS の病態把握するための検査法として有用であるかを検討した。さらに、唾液中のサイトカイン濃度を経時的に計測することで、SS の病態進展のモニターとなり得るかを検討した。

## 3. 研究の方法

SS 患者 90 例、DND 患者 22 例、RD 患者 30 例、健常者 36 例を対象とし、UWS、SWS、VAS による自覚症状を測定した。次に、フローサイトメトリー法にて唾液中サイトカイン濃度を、ELISA 法にてストレス関連物質である分泌型 IgA (SIgA)、クロモグラニン A (CgA) 濃度を測定し、健常者と比較検討した。

## 4. 研究成果

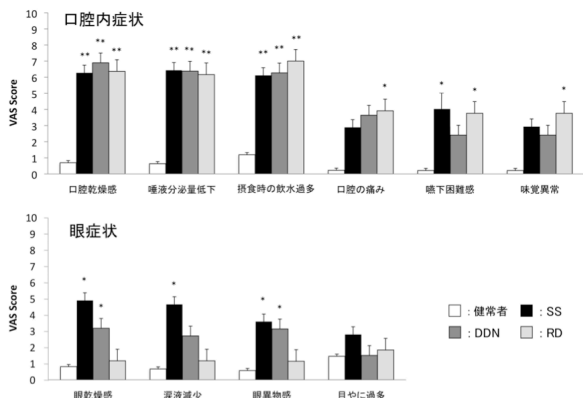
### <ドライマウス患者における臨床所見に関する検討>

#### 1) ドライマウス患者の背景

性差に関しては SS 患者と DDN 患者では男性より女性が有意に多かった。口腔乾燥感を自覚してから当科受診までの時間を病脳期間とし、それぞれのドライマウス患者で比較したところ、SS 患者 (平均期間 52.8 ± 12.5 か月)、DDN 患者 (平均期間 32.6 ± 10.3 か月)、RD 患者 (平均期間 18.4 ± 4.5 か月) であったが、それぞれの疾患の間に有意差は認めなかった。

#### 2) ドライマウス患者における自覚的乾燥症状の検討

ドライマウス患者における自覚的乾燥症状を健常者と比較した結果、口腔乾燥症状の項目については、SS 患者および DDN 患者は口腔乾燥感、唾液分泌量低下、摂食時飲水過多の VAS 値が有意に高値であった。一方、RD 患者では上記の項目に加え、口腔の痛み、嚥下困難感、味覚異常の VAS 値も有意に高値であった。また、眼乾燥症状の項目については、SS 患者では眼乾燥感、涙液減少、眼異物感の VAS 値が有意に高値であった。DDN 患者では眼乾燥感、眼異物感の VAS 値が有意に高値であった。RD 患者ではいずれの項目においても有意な差は認めなかった (次頁の図参照)。

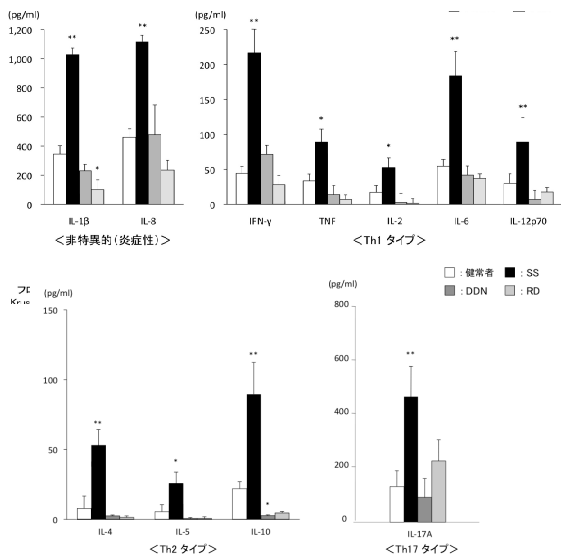


ドライマウス患者における唾液分泌量 (UWS、SWS) を健常者と比較した結果、UWS の平均唾液分泌量 (ml/15 min) は、健常者で  $4.28 \pm 2.12$ 、SS 患者で  $0.78 \pm 1.07$ 、DDN 患者で  $0.83 \pm 0.90$ 、RD 患者で  $1.51 \pm 1.77$  であり、いずれのドライマウス患者においても健常者と比較して有意に減少していた。一方、SWS の平均唾液分泌量 (g/2 min) は、健常者で  $5.22 \pm 1.17$ 、SS 患者で  $1.63 \pm 1.48$ 、DDN 患者で  $3.33 \pm 1.59$ 、RD 患者で  $2.21 \pm 1.28$  であり、SS 患者および RD 患者は健常者と比較して有意に減少していたが、DDN 患者は有意差を認めなかった。

#### <ドライマウス患者の唾液中のサイトカインおよびストレス関連物質の検討>

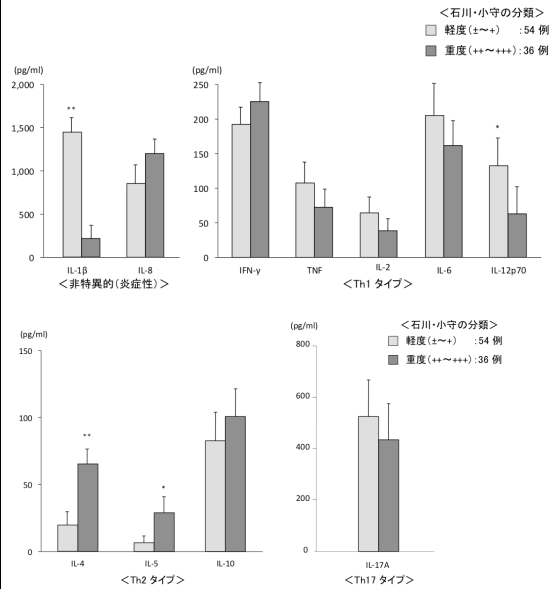
1) ドライマウス患者における唾液中サイトカイン濃度の検討 (患者別および SS 患者の重症度別の比較)

ドライマウス患者の唾液中サイトカイン濃度を健常者と比較した結果図 3 に示す。SS 患者では、検索した全てのサイトカインの濃度が健常者と比較して有意に高かった。DDN 患者では、Th2 タイプの IL-10 が健常者と比較して有意に低値であった。RD 患者では、非特異的 (炎症性) タイプの IL-1β が健常者と比較して有意に高値であった (下図)。



次に、SS 患者を口唇腺におけるリンパ球浸潤程度で軽度と重度の 2 群に分け比較した

ところ、非特異的 (炎症性) タイプの IL-1β、Th1 タイプの IL-12p70 が軽度群で、Th2 タイプの IL-4、IL-5 が重度群で有意に高値を示した (下図)。



2) ドライマウス患者における唾液中 SIgA 濃度および CgA 量の検討

SIgA 濃度は SS 患者と RD 患者で健常者より高値であったが、健常者とドライマウス患者との間に有意差は認めなかった。一方 CgA 量は、DDN 患者のみ健常者と比較して有意に高値を示した。

これらの結果から、臨床所見、唾液中サイトカインおよび CgA の検索は、ドライマウスの診断に有用であることが示唆された。また、経時的な唾液中サイトカインの検索は、繰り返し行うことが困難な口唇腺生検に代わって、SS の病態進展の把握にも応用できる可能性が考えられた。

#### 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 3 件)

- Ohyama K, Moriyama M, Hayashida JN, Tanaka A, Maehara T, Ieda S, Furukawa S, Ohta M, Imabayashi Y, **Nakamura S**. Saliva as a potential tool for diagnosis of dry mouth including Sjögren's syndrome. *Oral Diseases*, 2014 in press.
- JN Hayashida, S Minami, M Moriyama, T Toyoshima, S Shinozaki, A Tanaka, T Maehara, **S Nakamura**. Differences of Stimulated and Unstimulated Salivary Flow Rates in The Patients with Dry Mouth. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine and Pathology*, 2014 in press.
- Moriyama M, Hayashida J-N, Toyoshima T, Ohyama Y, Shinozaki S,

Tanaka A, Maehara T, **Nakamura S**.  
Cytokine/chemokine profiles contribute  
to understanding the pathogenesis and  
diagnosis of primary Sjögren's syndrome.  
Clinical & Experimental Immunology  
169(1):17-26, 2012.

4. Shinozaki S, Moriyama, M, Hayashida  
J-N, Tanaka A, Maehara T, Ieda S,  
**Nakamura S**. Close association  
between oral Candida species and oral  
candidiasis in patients with xerostomia.  
Oral Diseases 18(7):667-672, 2012.

[学会発表] (計 3 件)

1. 森山 雅文、田中 昭彦、前原 隆、大山 恵子、古川 祥子、太田 美穂、林田 淳之將、**中村 誠司**「当科におけるドライマウスの診断と治療体系 - M3 型ムスカリン受容体アゴニストによるドライマウス治療 -」第 22 回日本シェーグレン症候群学会学術集会. 平成 25 年 9 月 13 日
2. 大山 恵子、森山 雅文、田中 昭彦、前原 隆、林田 淳之將、篠崎 昌一、家田 晋輔、古川 祥子、太田 美穂、今林 佑美、**中村 誠司**. 「唾液を用いたドライマウスの新しい診断方法とその有用性の検討」第 68 回日本口腔科学会学術集会. 平成 25 年 9 月 14 日
3. **中村 誠司**. シンポジウム「シェーグレン症候群の病態と T 細胞サブセット」第 20 回シェーグレン症候群学会学術集会. 平成 23 年 9 月 9 日

[図書] (計 1 件)

1. 森山 雅文、**中村 誠司**「IgG4 関連疾患アトラス」、川 茂幸、川野 充弘 編：ミクリツ病における唾液腺病変 68-74 頁、前田書店、2012

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
中村 誠司 (NAKAMURA SEIJI)  
九州大学・歯学研究科 (研究院)・教授  
研究者番号：60189040

(2)研究分担者  
林田淳之將 (HAYASHIDA JUN-NOSUKE)  
九州大学・歯学研究科 (研究院)・助教  
研究者番号：80432920

森山 雅文 (MORIYAMA MASAFUMI)  
九州大学・歯学研究科 (研究院)・助教  
研究者番号：20452774

(3)連携研究者  
なし