

氏 名	道 重 文 子
(ふりがな)	(みちしげ ふみこ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第 号
学位審査年月日	平成26年1月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題名	口腔内生体防御能を評価に供する唾液中の指標に関する研究 i) 口腔内の生体防御能に関する評価指標についての研究 ii) Effect of saliva collection method on the concentration of protein components in saliva (Study of indices in saliva for evaluation of oral host defense) i) (Study of possible indices for evaluation of oral host defense) ii) (唾液中タンパク成分の濃度に及ぼす唾液採取法の影響)
論文審査委員	(主) 教授 植 野 高 章 教授 河 田 了 教授 玉 置 淳 子

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

#### 《目 的》

生体防御因子である唾液中の分泌型 IgA 抗体 (sIgA) やタンパク分解酵素の測定は、よりよい口腔ケアの方法を開発するための客観的な指標となり得るとされている。しかし、口腔ケアを最も必要とする長期療養中の高齢者や意識障害をもつ患者、あるいは口内痛の

ある患者から、従来の吐唾法やワッテ法で必要量の唾液を採取することは困難である。こうした患者への唾液採取には吸引法が適していると考えられるが、詳細な報告は十分になされていない。この研究では、吸引法と従来法で採取した唾液中のタンパク成分を比較検討し、吸引法の有効性の検証をすること、吸引法にて採取した唾液中の若年者、成年者、高齢者の3群における唾液分泌流量及び生体防御因子の測定値を検討することを目的として行った。

#### 《対 象》

唾液採取方法の検討では、10名の20～22歳の健康な女性を対象とした。唾液分泌流および唾液中タンパク質の定量は、98名の歯牙歯肉の状態が比較的健常な成人の一般生活者を対象とした。98名を若年者群、成年者群、高齢者群に分けて検討した。

#### 《方 法》

唾液の採取方法および年齢による唾液分泌の変化について検討した。その指標として唾液分泌流量および各種唾液中タンパク質を測定した。

##### 1) 唾液採取方法

唾液採取法を以下の3つの方法で行い比較検討した。吸引法は設置型低圧持続吸引機に接続した吸引カテーテルの先端を主に口腔底に挿入し採取した。吐唾法は、常法にて行った。ワッテ法は、口腔内の唾液を吸収させたワッテを容器に入れ5000gで5分間遠心し回収した。

##### 2) 唾液分泌流量および唾液中タンパク質の定量

唾液採取は、食事の影響を受けない時間に実施し、採取時間は5分間として1分間あたりの分泌流量を求めた。それぞれの採取法は15分間の間隔をあけて実施した。年齢による唾液分泌の変化についての検討では唾液採取は吸引法で行った。唾液中の生体防御に関わるタンパク成分の測定は、総タンパク量はLowryらの方法、sIgAとHuman airway trypsin-like protease (HAT)はSandwich ELISA、カリクレイン活性とトリプシン活性

は蛍光比色法にて行った。得られた値は、それぞれに設定した群に分け、群間比較は、Fisher's の PLSD による多重比較検定をおこなった。

上記の研究について徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会（2004年9月）で承認（承認番号 286）された。

## 《結 果》

### 1) 唾液採取方法

唾液分泌流量は、吐唾法は  $0.40 \pm 0.19$  ml/min、ワッテ法は  $0.38 \pm 0.18$  ml/min に比べ、吸引法は  $0.79 \pm 0.18$  ml/min で約 2 倍量であった。総タンパク量、sIgA、トリプシン活性、HAT については、吸引法と吐唾法はほぼ同じであったが、ワッテ法は吸引法と吐唾法に比べ有意に低かった。カリクレイン活性は 3 群間で有意な差はみられなかった。

### 2) 年齢群別にみた唾液分泌流量及び生体防御因子の測定値について

若年者群、成年者群、高齢者群の唾液分泌流量の平均は、各群間に有意差を認め、唾液分泌流量は加齢とともに低下していた。総タンパクとカリクレイン活性の濃度は加齢とともに統計的に有意に増加したが、sIgA 及びトリプシン活性並びに HAT の濃度は年齢との間に一定の関係を見出せなかった。一定時間に分泌される唾液中の総タンパクや sIgA、HAT の総量および酵素の総活性量は、年齢とともに低下する傾向にあり、いずれも若年者群に比べ成年者群と高齢者群で統計学的に有意に低下していた。

## 《考 察》

吸引法は他の方法に比べ容易、かつ、多くの唾液を採取できること、またワッテ法では測定対象とする物質のワッテ繊維への吸着によると思われる測定値の低下が認められることが示唆された。これらの結果より、吸引法は唾液分泌量測定に適しており、また唾液中生体防御因子の測定にも影響を与えない方法であると考えられる。

若年者群、成年者群、高齢者群の唾液分泌量を測定したところ、年齢層が高くなるに従って減少した。一方、唾液中の各タンパク質濃度は、年齢層間で一定の傾向を示さなかった。

しかし、一定時間に採取された各タンパク質の総量は年齢層が高くなるにつれて減少していた。よって加齢に伴う口腔内の生体防御能の低下をみるとき、その評価指標として、唾液分泌量だけでなく、一定時間内に採取した唾液中の各タンパク質の総量を用いることが有用であると考えた。

#### 《結 論》

口腔内の生体防御能の低下の指標として、吸引法によって採取した唾液中の各生体防御因子の総量を測定することが有用であった。

(様式 乙9)

## 論文審査結果の要旨

口腔衛生管理に必要な客観的指標のひとつとして唾液中の生体防御因子がある。しかし、口腔衛生管理を最も必要とする長期療養中の高齢者や、意識障害をもつ患者等から従来の吐唾法やワッテ法にて必要量の唾液を採取することは困難である。申請者は、吸引による唾液採取法の有用性の検証と、吸引法で採取した唾液中の生体防御因子について一般生活者における測定値を検討することを目的に研究を行った。

採取法の検討では、吸引法、吐唾法、ワッテ法について、唾液分泌流量と生体防御に関わる総タンパク量、分泌型 IgA 抗体、カリクレイン活性、トリプシン様活性、Human airway trypsin-like protease について分析し、吸引法は他の方法に比べ、より多くの唾液を採取でき、唾液中の生体防御因子の測定に適していることを明らかにしている。唾液中の生体防御因子の検討では、自ら確立した吸引法を用いて、一般生活成者を対象とし、前記の各指標について、採取法と同様の分析を、若年者群、成年者群、高齢者群の群間比較を行い、一定時間に採取した唾液中の各成分の総量（総活性）は年齢とともに減少することを明らかにしている。これらの結果は、加齢に伴う口腔内の生体防御能の低下を前提とすれば、生体防御因子の基準値には、吸引法により採取した唾液中の各因子の総量を用いるのが有効である事を示唆している。

本研究は、低侵襲的に採取できる唾液に着眼し、今後の医療における口腔衛生管理に必要な口腔内生体防御能の客観的指標を提供するものである。その内容は口腔衛生管理の発展に大きく寄与するものである。

以上により、本論文は本学学位規程第3条第2項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

大阪医科大学雑誌 72(3): 113-119, 2013

The Journal of Medical Investigation 53(1,2): 140-146, 2006