

平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）

「唾液検査・質問紙調査・口腔内カメラから成る、
新たな歯科のスクリーニング手法と歯科保健サービスの開発、
及び歯科保健行動に及ぼす影響に関する研究」
分担研究報告書

多項目唾液検査システムにより得られる唾液中成分と全身性の健診結果との関連

研究代表者 中路重之（弘前大学大学院医学研究科・特任教授）

研究分担者 翠川辰行（ライオン株式会社・主任研究員）

研究要旨：唾液による全身健康状態のスクリーニングの可能性を検証することを目的に、地域住民を対象とした健康診断において唾液検査を実施し、全身性の健診結果と唾液検査結果の関連を解析した。その結果、唾液中成分とインスリン抵抗性指標および腎機能指標との間に有意な関連を見出した。また、腎機能指標の臨床基準値で受診者を層別したところ、腎機能が低下していると推測される受診者では唾液中成分が有意に変化していることを確認した。以上の結果から、唾液検査によるインスリン抵抗性発症および腎機能低下のスクリーニングの可能性が示唆された。今後、実用化に向けて更なるデータの蓄積と精緻な解析を行い、精度の高いスクリーニングモデルを構築する。

A. 研究目的

唾液は唾液腺から口腔内に分泌され、緩衝能による適正 pH の維持や口腔内粘膜の潤滑化、抗菌作用による異物の排除など、多岐にわたり重要な働きをしている¹⁾。また、歯周組織やプラーク、血液由来の様々な成分を含んでいることから、う蝕・歯周病等の病態検査として利用されることに加え²⁻⁵⁾、近年では全身の健康状態を反映する唾液中の様々なバイオマーカーに関する研究も進められている⁶⁻⁸⁾。歯科疾患と糖尿病等の生活習慣病との関連^{9,10)}や、ロコモや認知症など高齢者の機能低下との関連^{11,12)}も示唆されており、口腔の健康づくりは全身の健康づくりにも極めて重要であると考えられる。そこで本研究では、開発した歯科スクリーニング手法の一部を構成する多項目唾液検査システム（SMT：Salivary Multi Test）により得られるデータと全身性の健診データとの関連を解

析し、唾液検査システムによる全身の健康状態のスクリーニングの可能性を検証した。

B. 研究方法

平成 28 年度（受診者数 1,148 名、うち男性 455 名、女性 693 名、平均年齢 54.5±15.7 歳）および平成 29 年度（受診者数 1,073 名、うち男性 440 名、女性 633 名、平均年齢 54.5±15.4 歳）岩木健康増進プロジェクト/プロジェクト健診（以下、岩木 Pjt 健診）において、全身性の健康診断と SMT による唾液検査を実施し、両者の関連を解析した。全身性の健診項目としては、メタボリックシンドローム、ロコモティブシンドローム、認知機能などに関する約 600 項目を解析に供した。SMT 検査項目としては、むし歯菌数、酸性度、緩衝能、潜血濃度、白血球数、タンパク質濃度、アンモニア濃度のそれぞれに対応する 7 項目を用いた。SMT 検査

結果の値には、試験紙の呈色変化を表す反射率を用いた。

(1) 唾液による糖尿病スクリーニング検査の可能性検証

まず、既に関連が明らかになっている歯周病と糖尿病の関連^{9,10)}について、唾液によるスクリーニング検査の可能性を検証した。平成28年度岩木Pjt健診受診者を解析対象とし、このうち、がん、脳卒中、虚血性心疾患、慢性肝疾患の罹患歴のある者、糖尿病治療者、ステロイド服用者は対象から除外した。これまでの検討¹³⁻¹⁵⁾において、歯周病との関連が認められた唾液検査項目(潜血濃度、白血球数、タンパク質濃度)、年齢、BMI、飲酒習慣、喫煙習慣、運動習慣を説明変数とし、糖尿病関連指標を目的変数とした重回帰分析を男女別および年齢別(60歳未満/以上)に実施し、唾液中成分と糖尿病指標の関連を解析した。

(2) 唾液による全身健康スクリーニング検査の可能性検証

続いて、新規知見の発掘のため、平成29年度岩木Pjt健診受診者の全身性健診項目(約600項目)を用いて、唾液検査項目との関連性を網羅的に解析した。具体的には、SMT反射率から算出される3段階の判定結果(High/Middle/Low)で受診者を3群に層別し、High群とLow群の全身性健診項目を共分散分析にて比較した。その際、年齢を共変量とし、男女別に解析を行い、 $p < 0.01$ かつ $\eta^2 > 0.06$ を満たす関連性を抽出した。さらに、抽出した関連性について、全身性健診項目の臨床基準値で受診者を層別し、各唾液検査項目を群間比較した。

統計学的解析は、統計ソフトJMP (version13, SAS)、SPSS (version23, IBM)、R (version3.5.2, CRAN)を用いて行い、有意水準は5%とした。

C. 研究結果

(1) 唾液による糖尿病スクリーニング検査の可能性検証

これまでの検討¹³⁻¹⁵⁾において、歯周病と関連が認められた唾液検査項目である潜血濃度、白血球数、タンパク質濃度について、糖代謝に関連する血液指標であるインスリン、C-ペプチド、HOMA-IR、空腹時血糖との関連を解析した。

まず、60歳未満の受診者を対象に実施した重回帰分析の結果(表1)、男性では潜血濃度、白血球数、タンパク質濃度のいずれにおいても、インスリン並びにHOMA-IRと有意な関連が見られた。また、潜血濃度、タンパク質濃度とC-ペプチド、タンパク質濃度と空腹時血糖についても有意な関連が見られた。一方、60歳未満の女性受診者については、タンパク質濃度とC-ペプチド並びにHOMA-IRに有意な関連が認められた。同様に、60歳以上の受診者を対象に重回帰分析を行った結果(表2)、男性では有意な関連は認められず、女性においてはタンパク質濃度と空腹時血糖に有意な関連が認められたのみであった。

表1 糖尿病関連指標と唾液中成分の関連(60歳未満の受診者対象、* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

| | 潜血濃度 | | | | 白血球数 | | | | タンパク質濃度 | | | |
|---------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|---------|--------|-------|--------|
| | 男性 | | 女性 | | 男性 | | 女性 | | 男性 | | 女性 | |
| | B | p値 | B | p値 | B | p値 | B | p値 | B | p値 | B | p値 |
| インスリン | -0.99 | 0.04* | -0.01 | 0.88 | -0.11 | 0.03* | -0.03 | 0.55 | -0.15 | 0.00** | -0.09 | 0.10 |
| C-ペプチド | -0.09 | 0.05* | -0.09 | 0.05 | -0.09 | 0.06 | -0.05 | 0.27 | -0.15 | 0.00** | -0.15 | 0.00** |
| HOMA-IR | -0.11 | 0.02* | -0.03 | 0.52 | -0.12 | 0.01* | -0.02 | 0.67 | -0.18 | 0.00** | -0.11 | 0.04* |
| 空腹時血糖 | -0.07 | 0.20 | -0.07 | 0.19 | -0.01 | 0.81 | 0.04 | 0.45 | -0.14 | 0.02* | -0.06 | 0.29 |

表2 糖尿病関連指標と唾液中成分の関連(60歳以上の受診者対象、* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

| | 潜血濃度 | | | | 白血球数 | | | | タンパク質濃度 | | | |
|---------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|---------|------|-------|-------|
| | 男性 | | 女性 | | 男性 | | 女性 | | 男性 | | 女性 | |
| | B | p値 | B | p値 | B | p値 | B | p値 | B | p値 | B | p値 |
| インスリン | 0.03 | 0.72 | -0.01 | 0.82 | 0.02 | 0.83 | 0.07 | 0.23 | -0.03 | 0.75 | -0.06 | 0.35 |
| C-ペプチド | -0.02 | 0.84 | -0.05 | 0.44 | -0.07 | 0.45 | -0.02 | 0.73 | -0.01 | 0.93 | -0.10 | 0.11 |
| HOMA-IR | 0.00 | 0.98 | -0.05 | 0.39 | 0.00 | 0.97 | 0.04 | 0.50 | -0.03 | 0.74 | -0.09 | 0.13 |
| 空腹時血糖 | -0.06 | 0.56 | -0.12 | 0.06 | 0.01 | 0.94 | -0.07 | 0.26 | 0.04 | 0.70 | -0.15 | 0.02* |

(2) 唾液による全身健康スクリーニング検査の可能性検証

続いて、新たな全身健康スクリーニング技術の着眼点発掘に向けて、全身性の健診項目を目的変数、唾液検査項目を説明変数、年齢を共変量とした網羅的共分散分析を男女別に実施した。SMT反射率から算出される3段階の判定結果で受診者を

3群に層別し、High群とLow群で群間比較を行ったところ、男女共に、唾液酸性度のLow群(SMTの酸性度が「低い」と判定された群)において、High群(SMTの酸性度が「高い」と判定された群)と比較して、腎機能指標の1つである血中尿素窒素(以下、BUN)が有意に高値を示した(図1)。さらに、BUNの臨床基準値である20mg/dLで受診者を層別し、年齢を共変量とした共分散分析により、唾液酸性度を群間比較したところ、BUNが20mg/dL以上の受診者では、20mg/dL未満の受診者と比較して、唾液酸性度が有意に低値を示した($p<0.01$ かつ $\eta^2>0.01$)(図2)。

図1 SMT酸性度(判定値)での層別によるBUNの比較

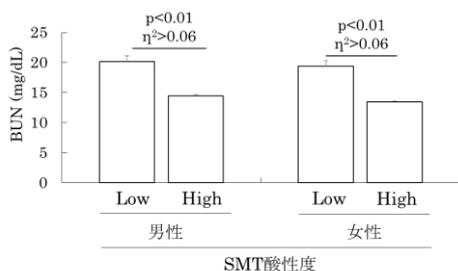
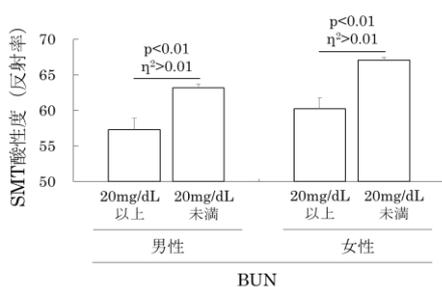


図2 BUNの臨床基準値での層別によるSMT酸性度(反射率)の比較



D. 考察

歯周病と糖尿病の関連はこれまでに複数報告されているが、岩木 Pjt 健診における全身性の健診項目と唾液検査項目の関連解析から、今回新たにSMTによる唾液検査項目と糖尿病指標の有意な関連を見出した。特にインスリン抵抗性の指標で

あるHOMA-IR値や血中C-ペプチド濃度が、男女共に唾液のタンパク質濃度と有意に関連していた。既報において、糖尿病患者に対する歯周病治療により、インスリン抵抗性惹起因子として知られるTNF- α や高感度CRPなどの血中濃度が低下することが報告されている^{16,17}。即ち、インスリン抵抗性と歯周病の病態が関連することが考えられ、今回の検討にて、インスリン抵抗性とSMTの歯周病関連項目(タンパク質濃度等)間の有意な相関として表れたと考えられた。2型糖尿病の発症機序においては、遺伝要因や環境要因によりインスリン分泌障害およびインスリン抵抗性が発症したのち、慢性的な高血糖状態に陥ることで、糖尿病を発症する¹⁸。今回、糖尿病罹患者を除いた健康な受診者において、唾液中成分とインスリン抵抗性指標に関連が認められたことから、2型糖尿病発症の予兆を早期に検出できる唾液検査の可能性が示唆された。

続いて、新規知見の発掘を目指した網羅的な関連性解析において、唾液の酸性度と腎機能指標(血中尿素窒素; BUN)の有意な関連を見出した。既報では、腎疾患患者で上昇したBUNが唾液中に漏出することで唾液中の尿素窒素(SUN)の濃度が上昇し、口腔内細菌由来のウレアーゼの作用によってSUNからアンモニアが生成することで、唾液のpHが上昇することが報告されている¹⁹。従って、今回得られた結果についても、BUN上昇に伴う唾液pHの上昇をSMTの酸性度項目が検出したことによるものと考えられた。また、健康な受診者(BUNが20mg/dL未満)と比べて、腎機能の低下が懸念される受診者(BUNが20mg/dL以上)では、SMTの酸性度(反射率)が有意に低値を示した(唾液のpHとしては高値)ことから、SMTの酸性度項目を用いた腎機能低下の簡易スクリーニング検査の可能性が示唆された。

日本における糖尿病患者数は生活習慣と社会環境の変化に伴い急速に増加しており、合併症である網膜症や腎症の発症も深刻な問題となっている。

特に腎症は末期になると透析治療が必要となり、2017 年末の慢性透析治療を受けている患者総数は 33 万人超²⁰⁾、2016 年度の糸球体疾患・腎尿細管間質性疾患・腎不全に係る医療費は 1 兆 5598 億円となっており²¹⁾、糖尿病や腎臓病の早期発見・病状コントロールに向けた対策が喫緊の課題となっている。2008 年からは生活習慣病予防および将来の医療費削減のため、40 歳から 74 歳までを対象とした特定健診制度が開始されたが、2017 年度時点での対象者全体の受診率は約 53%に留まり²²⁾、より身近で簡便に受診できる検査技術の開発が求められている。本研究で見出された関連は、唾液によるインスリン抵抗性・腎機能評価の可能性を示唆するものであり、特に唾液は無痛で自己採取・随時採取が可能な非侵襲性の高い検体であることから、簡易検査法としての活用が期待される。今後さらにフィールドを拡大して解析を推進し、技術の確立に向けてエビデンスを構築していく。

E. 結論

本研究により、多項目唾液検査システム SMT の、全身健康スクリーニングにおける有用性が示唆された。今後、全身性の健康状態と唾液中成分の関連を詳細に解析してエビデンスを蓄積し、検出精度の高いモデルを構築することで、安価で簡便な全身健康スクリーニング手法の開発につなげる。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

特になし

I. 参考文献

- 1) 「唾液一歯と口腔の健康—原著第3版」, 医歯薬出版株式会社 (2008)
- 2) Klock B et.al, A comparison between different methods for prediction of caries activity. *Scand J Dent Res*, 87, 129-139 (1979)
- 3) Vehkalahti M et.al, Evaluation of salivary tests and dental status in the prediction of caries increment in caries-susceptible teenagers. *Caries Res*, 30, 22-28 (1996)
- 4) Alaluusua S et.al, Salivary caries-related tests as predictors of future caries increment in teenagers. A three-year longitudinal study. *Oral Microbiol Immunol*, 5, 77-81 (1990)
- 5) Brinkmann O et.al, Salivary biomarkers for periodontal disease diagnostics. *Expert Opin Med Diagn*, 5, 25-35 (2011)
- 6) Wolff S, Investigating associations between momentary stress and cortisol in daily life: What have we learned so far?. *Psychoneuroendocrinology* (2018)
- 7) Nakagawa T et al., Sputum substance P in aspiration pneumonia. *Lancet*, 345, 1447 (1995)
- 8) Asai Y et al., Elevated Polyamines in Saliva of Pancreatic Cancer. *Cancers*, 10, 43 (2018)
- 9) Wang TT et al., A population-based study on the association between type 2 diabetes and periodontal disease in 12, 123 middle-aged Taiwanese (KCIS No.21). *J Clin Periodontol*, 36, 372-379 (2009)
- 10) Tsai C et al., Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. *Community Dent Oral Epidemiol*, 30, 182-192 (2002)

- 11) Mohammad AR et al., An investigation of the relationship between systemic bone density and clinical periodontal status in post-menopausal Asian-American women. *Int Dent J*, 53, 121-125 (2003)
- 12) Stephen S.D et al., Porphyromonas gingivalis in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. *SCIENCE ADVANCES*, 5 (2019)
- 13) 西永ら, 唾液による総合的な口腔検査法の開発, 日歯保存誌, 58 (3), 219-228 (2015)
- 14) 西永ら, 唾液による総合的な口腔検査法の開発, 日歯保存誌, 58 (4), 321-330 (2015)
- 15) 中路ら, 厚生労働省科学研究費補助金循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業「唾液検査・質問紙調査・口腔内カメラから成る、新たな歯科のスクリーニング手法としか保健サービスの開発、及び歯科保健行動に及ぼす影響に関する研究」平成29年度総括・分担研究報告書 (2018)
- 16) Teeuw WJ et al., Effect of periodontal treatment on glycemc control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, 33, 421-427 (2004)
- 17) Iwamoto Y et al., The effect of anti-microbial periodontal treatment on circulating TNF- α and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol*, 72, 774-778 (2001)
- 18) 清野裕, 糖尿病の診断と治療—現状と展望—, 98(4), 713-716 (2009)
- 19) Tomas I et al., Changes in salivary composition in patients with renal failure. *archives of oralbiology*, 53, 528-532 (2008)
- 20) 新田ら, わが国の慢性透析療法の現況 (2017年12月31日現在), 透析会誌, 51, 699-766 (2018)
- 21) 厚生労働省, 平成28年度国民医療費の概況. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kiryohi/16/dl/data.pdf>
- 22) 厚生労働省, 2017年度特定健診・特定保健指導の実施状況について (概要) . <https://www.mhlw.go.jp/content/12400000/00489840.pdf>