

## 報告

## 臨床検査試料として唾液の利用に関する研究

澁谷 雪子<sup>1)</sup> 野村 秀明<sup>2)</sup> 小野丈太郎<sup>3)</sup>

## Study on the usability of saliva as laboratory examination sample

Yukiko SHIBUYA<sup>1)</sup>, Hideaki NOMURA<sup>2)</sup>, and Jotarou ONO<sup>3)</sup>

## 要 旨

採取する際に非侵襲で患者への負担がない唾液が臨床検体の一般的な試料となる可能性について研究を行った。唾液を吸収体に吸収させ採取する方法 (Salivette) とストローを通して容器に採取する方法 (SaliCap) の2方法により採取し、唾液中の $\alpha$ -アミラーゼ、分泌型免疫グロブリンA、クロモグラニンA、上皮成長因子を測定し、それらの測定値に2つの唾液採取方法が影響を及ぼすかを検討した。採取方法はどちらも簡便であった。さらに唾液測定の臨床応用を検討するため、唾液中分泌型免疫グロブリンAと栄養評価項目の相関を検討した。唾液中分泌型免疫グロブリンAは身体的、血液学的栄養指標と相関がみられ、栄養評価 (アセスメント) として有用であることが示唆された。

キーワード：唾液、臨床検査試料、分泌型免疫グロブリンA

## Summary

This study was conducted for usability of saliva as laboratory examination sample. Saliva was collected in two methods (Salivette, SaliCap) to measure  $\alpha$ -amylase, secretory immunoglobuline (sIgA), chromogranin A, epidermal growth factor. It was easy to collect saliva in both methods.

To investigate the clinical application of saliva was also examined correlations in saliva sIgA and nutrition evaluation items. Saliva sIgA seen a correlation with items related to nutrition, it has been suggested that saliva sIgA is useful as indicator of nutritional assessment.

Key words : salive, clinical examination sample, secretory IgA

1) 保健科学部医療検査学科 2) 教育イノベーション機構 (保健科学部医療検査学科)  
3) 信州大学医学部附属病院臨床検査部

## はじめに

臨床検査では、血液、尿や各種の分泌液（関節液、消化液、精液など）などの多くの検査試料を対象として検査を行う。一般的に血液、尿を検体試料として検査を行うことが多いが、血液採取（採血）は侵襲的であり、患者の負担を有し、尿採取（採尿）は非侵襲的であるが、採取困難または排尿困難な患者に負担となることもある。

唾液は唾液腺（小唾液腺：口唇腺、頬腺、舌腺、口蓋腺、臼歯腺、エブネル腺など、大唾液腺：耳下腺、顎下腺、舌下腺）から分泌され、口腔粘膜および歯質の保護、口腔の洗浄、食物の咀嚼・嚥下の円滑化、消化作用、抗菌作用、緩衝作用、抗脱灰・再石灰化作用、味覚発現の促進などの役割を有している。<sup>1)</sup> 唾液には、酵素（ $\alpha$ -アミラーゼ、マルターゼなど）、蛋白質（アルブミン、グロブリン、ムチン、リゾチーム、ラクトフェリン、ヒスタチン）、窒素化合物（尿素、尿酸、クレアチニン）、無機質（ナトリウム、カリウム、クロール、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム）などが含まれている。また、唾液中の薬物（抗けいれん薬、抗神経薬、抗がん薬など）が測定され、さらに法医学領域では唾液からDNAを抽出し個人識別や性別判定に利用されている。最近、唾液中のコーチゾール、アミラーゼ、クロモグラニンAなどのストレスマーカー測定の有用性が報告されている。<sup>2)</sup> このように非侵襲的に採取される唾液は検査試料としての可能性は大きい。しかし、唾液が検査試料として未だ一般化はされていない。

唾液採取方法には流涎法、コットン等の吸収体に唾液を吸収させて採取する方法が用いられる。コットン素材などの唾液吸収体を利用した採取方法が多く用いられているが、コットン素材の唾液吸収体を利用し採取した唾液は、測定値に影響を与えることが報告されている。<sup>3), 4)</sup>

現在の唾液検査では、物質ごとの採取方法の基準は定められていない。多くの物質に有用な採取方法が確定し、また一般的な臨床検体として唾液の有用

性を確認することで、採取の簡便な唾液は自己採取が可能となり、また唾液の一般的な検査試料としての可能性が示される。

本研究は唾液の検査試料としての利点、欠点を明らかにすることを主目的とし、今後、唾液が一般的な検査試料になる可能性について検討する。

## 目的

### I. 唾液の採取方法の違いによる唾液成分濃度への影響について

唾液を吸収体に吸収させ、遠心により採取する方法とストローを通して採取する方法の2方法を用いて唾液を採取し、唾液に含まれる消化作用を担い、ストレス指標である $\alpha$ -アミラーゼ（以下AMY）、抗菌作用を有する分泌型免疫グロブリンA（以下sIgA）、ストレス指標であるクロモグラニンA（以下CgA）、組織修復力を有する上皮成長因子epidermal growth factor（以下EGF）を測定し、採取方法による唾液成分濃度のへの影響、採取後から保存までの時間による唾液成分濃度の変動、採取時間による変動を検討し、唾液の臨床検査試料としての基礎的研究を行った。

### II. 唾液検体測定による栄養評価の妥当性について

唾液中sIgAは口腔内の細菌やウイルスなどの微生物の侵入を防ぐ役割を持つ。重度の低栄養を示す患者では、sIgAは低値を示し免疫能が低下していることが少なくない。<sup>5)</sup> そこで、療養型病棟に入院する高齢者と介護老人保健施設に入院する高齢者を対象に、身体計測からなる主体的栄養評価（SGA）と血液検査（総コレステロール、総タンパク、アルブミン、末梢血リンパ球数）からなる客観的栄養評価（ODA）を実施し、また唾液中sIgA濃度を測定することにより、唾液sIgAの栄養指標としての妥当性を検討した。

## 方法

### I. 唾液の採取方法の違いによる唾液成分濃度への影響について

検体は54検体（インフォームドコンセントを得た11名：男性3名、女性8名、21～51歳）、唾液採取はSalivette（SARSTED）を用い吸収体を口腔内で噛み（1分間）、唾液を浸み込ませた吸収体を容器に入れ、遠心により唾液を採取する方法と、SaliCap（IBL）を用いストローを通して唾液を容器に採取する方法により行った。唾液は自己採取が可能であり、その利点を考慮し、混合唾液を採取した。両方法での採取は同時刻で行った。AMY測定はエクディアXL栄研AMYⅡ（栄研化学）を使用し、生化学自動分析装置CA-90（古野電気）を用い測定した。sIgA測定はHuman IgA ELISA Kit, pink-ONE（KOMABIOTECH）、CgA測定はYK070 Human Chromogranin A EIA（矢内原研究所）、EGF測定はHuman EGF ELISA Kit, pink-ONE（KOMABIOTECH）を使用し、マイクロプレートリーダーSH-1200Lab（コロナ電気）を用い測定した。

Salivette、SaliCapによる唾液採取の容易さ、唾液の性状を観察し、各測定項目の唾液中濃度を測定し、唾液採取方法ごとの平均を求め、採取方法の違いによる唾液成分濃度への影響を検討した。また唾液を同時に採取し（10検体、1名、女性、38歳）、採取0、0.5、1、1.5、2、3、6、9、12、24時間後に冷凍保存した唾液を測定し、各測定項目における採取から保存までの時間による影響を検討した。さらに採取時刻変え唾液を採取し（6：00、9：00、12：00、15：00、18：00、21：00、24：00に採取、1日7回×3日、10検体、1名、女性、38歳）、測定後、各測定項目における採取時刻における影響（日内変動）を検討した。

### II. 唾液検体測定による栄養評価の妥当性について

検体は27検体（インフォームドコンセントを得た療養型病棟に入院する高齢患者15名：男性4名、女性11名、平均年齢78.5歳、介護老人保健施設に入所

する高齢者12名：女性12名、平均年齢84.8歳）、唾液採取はSalivetteを用い採取した。sIgA測定はHuman IgA ELISA Kit, pink-ONE（KOMABIOTECH）を使用し、マイクロプレートリーダーSH-1200Lab（コロナ電気）を用い測定し、唾液採取中の1分間の唾液量の積から分時当たりの唾液に含まれるsIgAの総量を算出した。<sup>6)</sup> また入院診療録より身長・体重からなる基礎データと血液生化学検査データ（総コレステロール値、総タンパク値、アルブミン値、末梢血リンパ球数）を収集した。さらに上腕周囲長（AC）、上腕三頭筋脂肪厚（AMS）、体組成測定器を用いて体脂肪率の測定を行った。

身長および体重からなる基礎データと血液検査のアルブミン値から栄養アセスメントの1つである高齢者栄養リスク指数 Geriatric Nutritional risk Index（以下GNRI）<sup>7)</sup>を算出し栄養評価を行った。

これらの解析はXLSTAT for windowsを用い解析した。また本研究の検体は神戸常盤大学の倫理承認を得て研究を行った。

## 結果

### I. 唾液の採取方法の違いによる唾液成分濃度への影響について

#### i. 唾液採取法による検体への影響、唾液採取法の簡便さの検討

Salivetteによる唾液採取は容易であるが、唾液が吸収体に吸収されるため唾液量が分かりづらく、採取量が少ない検体がみられた。一方、SaliCapは唾液採取量が目に見え、採取量の不足は認められなかった。またSalivetteにより採取した唾液は全検体透明であった。一方、SaliCapにより採取した唾液は全検体混濁がみられた。SaliCapでは測定前に混濁がみられ測定値に影響がある可能性があったが、測定値への影響を検討するため混濁を遠心・分取せずに測定を行った。

#### ii. 唾液採取方法による各濃度への影響

Salivette、SaliCapにより採取した唾液の各測定

表1 唾液採取方法の違いによる各測定項目の濃度

|               |           | n  | 平均   | 最大値   | 最小値  | 高値で測定不可 | 唾液量が少ない |
|---------------|-----------|----|------|-------|------|---------|---------|
| AMY (IU/L)    | Salivette | 45 | 6134 | 8799  | 497  | 0       | 9       |
|               | SaliCap   | 54 | 7024 | 8969  | 5448 | 0       | 0       |
| sIgA (ng/mL)  | Salivette | 32 | 762  | 3605  | 7    | 3       | 9       |
|               | SaliCap   | 39 | 172  | 424   | 50   | 1       | 0       |
| CgA (pmol/mL) | Salivette | 38 | 9.9  | 167.3 | 0.5  | 0       | 1       |
|               | SaliCap   | 40 | 23.3 | 72.4  | 3.6  | 0       | 0       |
| EGF (pg/mL)   | Salivette | 27 | 821  | 9055  | 6    | 7       | 6       |
|               | SaliCap   | 23 | 1453 | 23578 | 43   | 17      | 0       |

表2 唾液採取方法の違いによる各測定項目の濃度 (両方法で値が算出できた検体)

|               |           | n  | 平均   | 最大値   | 最小値  | r      | p     |
|---------------|-----------|----|------|-------|------|--------|-------|
| AMY (IU/L)    | Salivette | 45 | 6134 | 8799  | 497  | -0.050 |       |
|               | SaliCap   | 45 | 6990 | 8961  | 5573 |        |       |
| sIgA (ng/mL)  | Salivette | 31 | 753  | 3605  | 7    | 0.188  | 0.311 |
|               | SaliCap   | 31 | 165  | 267   | 50   |        |       |
| CgA (pmol/mL) | Salivette | 38 | 9.9  | 167.3 | 0.5  | 0.049  | 0.770 |
|               | SaliCap   | 38 | 23.7 | 72.4  | 3.6  |        |       |
| EGF (pg/mL)   | Salivette | 17 | 476  | 1612  | 6    | -0.052 |       |
|               | SaliCap   | 17 | 382  | 1225  | 43   |        |       |

項目の濃度を表1に示す。Salivetteでは唾液量が少なく測定不可の検体が多くみられた。一方、SaliCapでは高濃度のため測定不可の検体が多くみられた(特に、EGF)。またsIgA以外の測定項目においてSaliCapで採取した唾液中濃度がSalivetteで採取した濃度より高濃度を示す結果となった。EGF濃度に関しては、SaliCapで採取した唾液の検体では高濃度で測定不可の検体もあったため、SaliCapのEGF濃度はさらに高濃度であると考えられる。

一方が測定不可の検体を除き、検体数を揃えて各

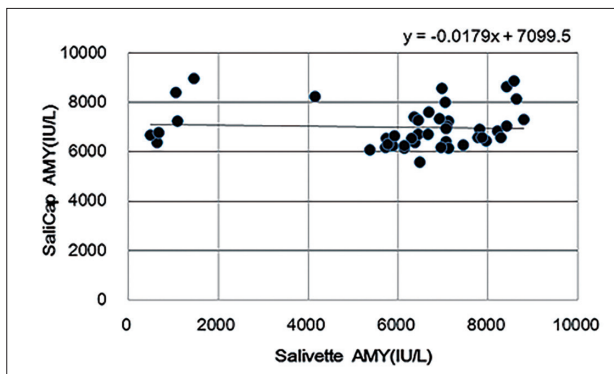


図1 唾液中AMY濃度 (Salivette、SaliCapによる違い)

Salivette、SaliCapで採取した唾液中AMY濃度を比較した。(r = -0.050、相関なし) Salivetteで採取した唾液AMY濃度が2000IU/L以下の検体ではSaliCapで採取した唾液AMY濃度は6000IU/L以上を3倍以上の濃度を示している。

測定項目の濃度を検討した結果を表2に示す。

唾液中AMY濃度では、SalivetteとSaliCapの相関はr = -0.050と相関は認められなかった。図1より、Salivetteで採取した唾液AMY濃度が2000IU/L以下であるが、SaliCapで採取した唾液AMY濃度が6000IU/L以上と3倍以上の濃度を示す検体のみられた。これらの検体を除いて比較した(図2)ところ、r = 0.482 (p=0.002 < 0.05)で相関を示した。

唾液中sIgAでは、SalivetteとSaliCapの相関

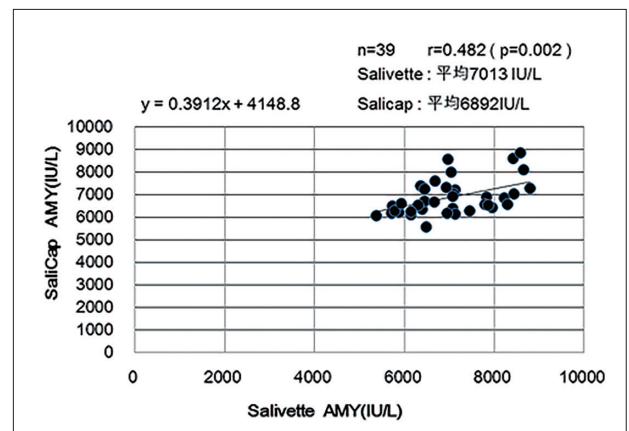


図2 唾液中AMY濃度 (SaliCapがSalivetteの3倍以上の検体を除く)

Salivetteで採取した唾液AMY濃度が2000IU/L以下、SaliCapで採取した唾液AMY濃度が6000IU/L以上示す検体を削除し、Salivette、SaliCapで採取した唾液中AMY濃度を比較した。

は  $r = 0.188$  ( $p = 0.311$ ) と相関は認められなかった (表2)。図3より、SaliCap で採取した唾液 sIgA 濃度は300 ng/mL 以下であるが、Salivette で採取した唾液 sIgA 濃度が1000 ng/mL を超える検体がみられた。Salivette の濃度が1000 ng/mL 以下の値のみを抽出し、比較した (図4) ところ、  
 $r = 0.410$  ( $p = 0.042 < 0.05$ ) で相関を示した。

唾液中 CgA では、Salivette と SaliCap の相関は  $r = 0.049$  ( $p = 0.770$ ) と相関は認められなかった (表2)。図5より、1検体で Salivette で採取した唾液 CgA 濃度が高値を示した。この検体を除き、比較した (図6) ところ、 $r = 0.394$  ( $p = 0.016 < 0.05$ ) で相関を示した。

唾液中 EGF では、Salivette と SaliCap の相関は

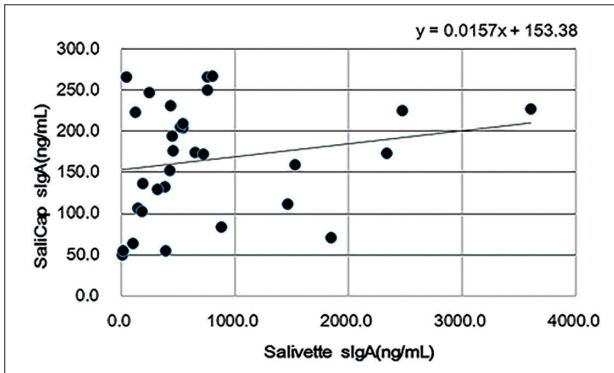


図3 唾液中 sIgA 濃度 (Salivette、SaliCap による違い)  
 Salivette、SaliCap で採取した唾液中 sIgA 濃度を比較した。 $(r=0.188, p=0.311)$  SaliCap で採取した唾液 sIgA 濃度が300ng/mL 以下であるが、Salivette で採取した唾液 sIgA 濃度が1000ng/mL を超える濃度を示す検体がみられた。

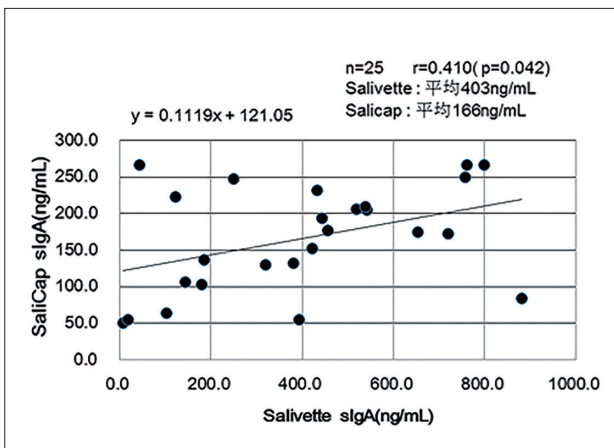


図4 唾液中 sIgA 濃度 (Salivette 100ng/mL 以下のみを抽出)

Salivette で採取した唾液 sIgA 濃度が1000ng/mL を超える濃度を示す検体を削除し、Salivette、SaliCap で採取した唾液中 sIgA 濃度を比較した。

$r = -0.052$  と相関は認められなかった (表2)。図7より、Salivette で500 pg/mL 以下にも関わらず、SaliCap で1000 pg/mL を超える検体がみられ、さらに SaliCap で500 pg/mL 以下にも関わらず、

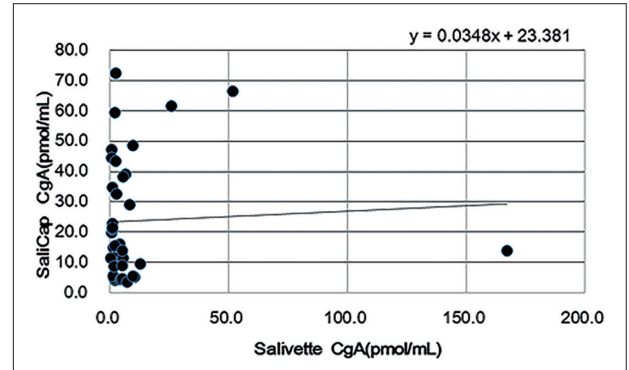


図5 唾液中 CgA 濃度 (Salivette、SaliCap による違い)  
 Salivette、SaliCap で採取した唾液中 CgA 濃度を比較した。 $(r=0.049, p=0.770)$  Salivette で採取した唾液 CgA 濃度が高値を示す検体が1検体みられる。

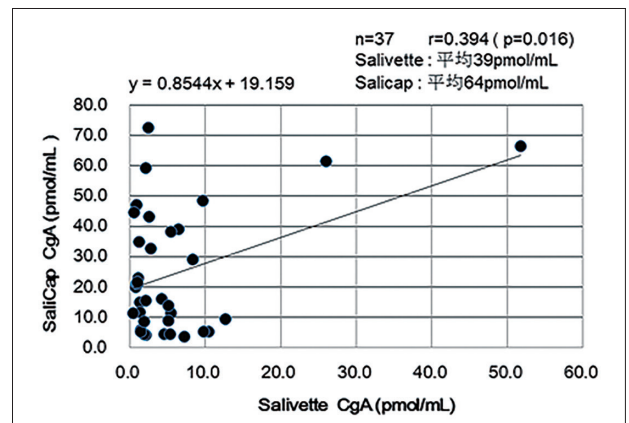


図6 唾液中 CgA 濃度 (Salivette 高値の検体を除く)  
 Salivette で高濃度を示した検体を削除し、Salivette、SaliCap で採取した唾液中 CgA 濃度を比較した。

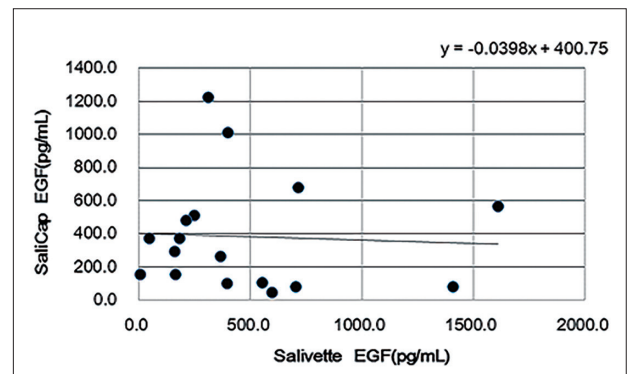


図7 唾液中 EGF 濃度 (Salivette、SaliCap による違い)  
 Salivette、SaliCap で採取した唾液中 EGF 濃度を比較した。 $(r=-0.052, p=0.770)$  Salivette で500pg/mL 以下であるが SaliCap で1000pg/mL 以上、SaliCap で500pg/mL 以下であるが Salivette で1000pg/mL 以上の検体がみられる。

SaliCap で1000 pg/mL を超える検体がみられた。

唾液採取から保存までの時間による各測定項目の濃度への影響を検討した結果、唾液 AMY 濃度は、Salivette では平均7580 IU/L、最大値8799 IU/L、最小値6385 IU/L、SaliCap では平均6657 IU/L、最大値7296 IU/L、最小値6151 IU/L と両採取方法とも大きな変動はみられなかった。唾液 sIgA 濃度は、Salivette では平均1391 ng/mL、最大値5000 ng/mL、最小値250 ng/mL、SaliCap では平均216 ng/mL、最大値266 ng/mL、最小値174 ng/mL であった。Salivette で採取し、時間経過と sIgA 濃度を検討した結果、保存までの時間が0時間から2時間までは高値 (2338~5000 ng/mL) を示し、2時間以降は平均545 ng/mL と安定した値を示した。一方、SaliCap で採取した検体は大きな変動はなかった。唾液 CgA 濃度は、Salivette では平均1.6 pmol/mL、最大値4.3 pmol/mL、最小値0.5 pmol/mL、SaliCap では平均14.3 pmol/mL、最大値34.8 pmol/mL、最小値4.5 pmol/mL と両採取法とも大きな変動はみられなかった。唾液 EGF 濃度は、Salivette では平均14027 pg/mL、最大値50000 pg/mL、最小値159 pg/mL、SaliCap では平均16126 pg/mL、最大値50000pg/mL、最小値264 pg/mL と両採取法とも大きな変動がみられた。

唾液の採取時刻による各測定項目の濃度への影響を検討した結果、唾液 AMY 濃度は、Salivette では平均6196IU/L、最大値8644 IU/L、最小値672 IU/L、SaliCap では平均7169 IU/L、最大値8961 IU/L、最小値6072 IU/L であった。Salivette で採取した唾液で早朝6:00に低値 (672 IU/L、1458 IU/L) を示した。一方、SaliCap では大きな変動はみられなかった。唾液 sIgA 濃度は、Salivette

では平均498 ng/mL、最大値1528 ng/mL、最小値103 ng/mL、SaliCap では平均156 ng/mL、最大値267 ng/mL、最小値55 ng/mL であった。Salivette で採取した唾液において1時刻で他の時刻より高値を示す検体がみられた。唾液 CgA 濃度は、Salivette では平均5.9 pmol/mL、最大値12.7 pmol/mL、最小値3.6 pmol/mL、SaliCap では平均16.8 pmol/mL、最大値48.6 pmol/mL、最小値3.6 pmol/mL であった。SaliCap で採取した唾液で、平均16.8 pmol/mL であるが、32.6、38.1、48.6 pmol/mL と高値を示す検体がみられたが採取時刻とは関係のない変動であった。唾液 EGF 濃度は、Salivette では平均15842 pg/mL、最大値50000 pg/mL、最小値165 pg/mL、SaliCap では平均19303 pg/mL、最大値50000 pg/mL、最小値40 pg/mL であった。両方法とも大きな変動を示したが、採取時刻とは関係のない変動であった。

II. 唾液検体測定による栄養評価の妥当性について

身体計測による主観的栄養評価を行った結果を表3に示す。上腕周囲長では療養型病棟女性は正常を示したが、療養型病棟男性および介護老人保健施設女性は基準値よりも低値を示した。上腕筋周囲長では男女を問わず全体で低値を示した。上腕三頭筋脂肪厚では療養型病棟男性の平均値が基準値よりも低値を示す結果となった。なお基準値は日本人の新身体計測基準値<sup>8)</sup>の85歳以上の値を正常値として採用した。

血液検査では総コレステロール以外の項目 (総タンパク、アルブミン、末梢血リンパ球数) で療養型病棟、介護老人保健施設ともに低値を示していた (表4)。末梢血リンパ球数は療養型病棟で1名記載がなかったほか、介護老人保健施設ではデータ欠損の

表3 身体計測結果

|          |             | 上腕周囲長 (cm) | 上腕筋周囲長 (cm) | 上腕三頭筋皮下脂肪厚 (mm) |
|----------|-------------|------------|-------------|-----------------|
| 療養型病棟    | 男性 (n = 4)  | 23.3±1.3   | 20.8±0.5    | 7.8±4.9         |
| 基準値      | 男性          | 24.0±3.1   | 21.4±2.7    | 8.0±4.6         |
|          |             | 上腕周囲長 (cm) | 上腕筋周囲長 (cm) | 上腕三頭筋皮下脂肪厚 (mm) |
| 療養型病棟    | 女性 (n = 11) | 23.7±3.6   | 18.7±2.3    | 15.8±4.7        |
| 介護老人保健施設 | 女性 (n = 12) | 21.7±1.3   | 18.5±2.4    | 10.0±5.7        |
| 基準値      | 女性          | 22.6±3.4   | 19.3±2.7    | 10.0±5.9        |

表4 血液検査結果

|                 | 総タンパク g/dL    | アルブミン g/dL    | 総コレステロール mg/dL   | 末梢血リンパ球数個 / $\mu$ L |
|-----------------|---------------|---------------|------------------|---------------------|
| 療養型病棟 (n=15)    | 6.5 $\pm$ 0.4 | 3.6 $\pm$ 0.4 | 184.8 $\pm$ 50.3 | 1147 $\pm$ 329      |
| 介護老人保健施設 (n=12) | 6.4 $\pm$ 0.3 | 3.5 $\pm$ 0.2 | 177.0 $\pm$ 27.5 |                     |
| 基準値             | 7.3 $\pm$ 0.5 | 4.6 $\pm$ 0.4 | 174.5 $\pm$ 26.1 | 2750 $\pm$ 722      |

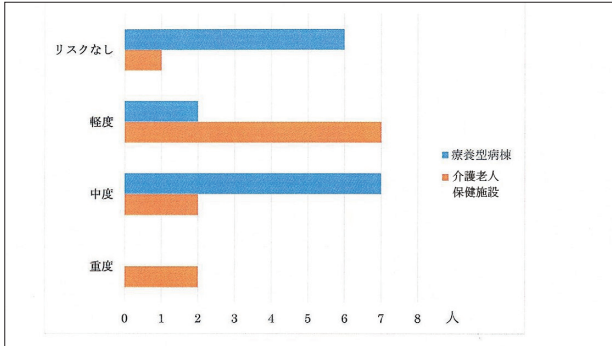


図8 GNRI 結果

身長、体重からなる基礎データと血液検査のアルブミン値から高齢者栄養リスク指数 (GNRI) を算出した。療養型病棟ではリスクなしと中程度栄養障害が多くみられ、介護老人保健施設では軽度栄養障害が多くみられた。

ため、療養型病棟14名のデータについて検討した。なお、総タンパク6.0 g/dL未滿、アルブミン3.5 g/dL未滿、総コレステロール120 mg/dL未滿、末梢血リンパ球数1000個 /  $\mu$  L未滿を低栄養とした。

GNRIの結果を図8に示す。療養型病棟ではリスクなしと中程度栄養障害の入院患者が多く、介護老人保健施設では軽度栄養障害の入居者が多いという結果となった。GNRI値は99以上をリスクなし、92~98を軽度栄養障害、82~91を中程度栄養障害、82未滿を重度栄養障害とした。

採取した唾液中のsIgA濃度とsIgA分泌総量を図9に示す。sIgA濃度は、療養型病棟よりも介護老人保健施設で低値を示し、有意差が認められた。(p=0.003\*\*\*) また、sIgA分泌総量においてもsIgA濃度と同様に療養型病棟よりも介護老人保健

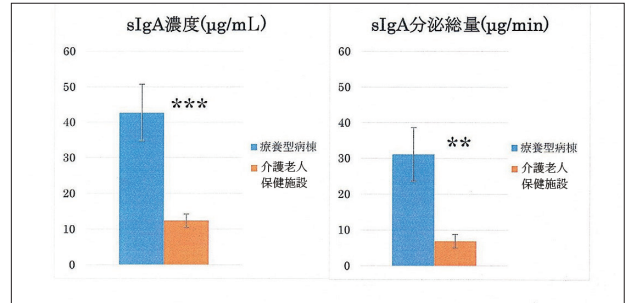


図9 sIgA 測定結果

療養型病棟、介護老人保健施設の唾液中sIgA濃度、唾液sIgA分泌総量を比較した。sIgA濃度、sIgA分泌総量ともに療養型病棟よりも介護老人保健施設で低値を示した。(sIgA濃度 p=0.003, sIgA分泌総量 p=0.009) 施設で低値を示し、有意差が認められた。(p = 0.009\*\*)

sIgA濃度、sIgA分泌総量と血液検査、身体計測の各項目の相関性を検討した結果を表5、表6に示す。療養型病棟ではsIgA濃度とGNRI、上腕三頭筋脂肪厚、総タンパク、アルブミン、総コレステロールの5項目で正の相関が得られた。相関が得られた項目のうち上腕三頭筋脂肪厚、総タンパクはp<0.01と有意差が認められ、さらにGNRI、アルブミン、総コレステロールではp<0.001という強い有意差が認められた。sIgA分泌総量ではGNRI、上腕周囲長、上腕三頭筋脂肪厚、末梢血リンパ球数の4項目で正の相関が得られた。相関が得られた項目のうちGNRI、末梢血リンパ球数ではp<0.001という強い有意差が認められた。介護老人保健施設ではsIgA濃度と上腕三頭筋脂肪厚、総タンパクの2項

表5 各項目との比較 (療養型病棟)

| 療養型病棟 (n=15) | sIgA濃度と各項目の比較 |                                |     | sIgA分泌総量と各項目の比較 |                                 |     |
|--------------|---------------|--------------------------------|-----|-----------------|---------------------------------|-----|
|              | 相関係数          | 有意差                            |     | 相関係数            | 有意差                             |     |
| GNRI         | 0.62          | 7.75 $\times$ 10 <sup>-6</sup> | *** | 0.23            | 2.53 $\times$ 10 <sup>-7</sup>  | *** |
| 上腕周囲長        | -0.13         | 0.05                           | *   | 0.3             | 0.44                            | ns  |
| 上腕三頭筋脂肪厚     | 0.33          | 0.004                          | *** | 0.39            | 0.04                            | *   |
| 上腕筋周囲長       | -0.36         | 0.018                          | *   | 0.19            | 0.19                            | ns  |
| 総タンパク        | 0.34          | 0.001                          | *** | -0.26           | 0.008                           | *** |
| アルブミン        | 0.37          | 0.0004                         | *** | 0.08            | 0.004                           | *** |
| 総コレステロール     | 0.33          | 2.35 $\times$ 10 <sup>-9</sup> | *** | 0.1             | 6.47 $\times$ 10 <sup>-10</sup> | *** |
| 末梢血リンパ球数     | -0.04         | 1.27 $\times$ 10 <sup>-8</sup> | *** | 0.46            | 1.11 $\times$ 10 <sup>-8</sup>  | *** |

表6 各項目との比較 (介護老人保健施設)

| 療養型病棟 (n=15) | sIgA 濃度と各項目の比較 |                        |     | sIgA 分泌総量と各項目の比較 |                        |     |
|--------------|----------------|------------------------|-----|------------------|------------------------|-----|
|              | 相関係数           | 有意差                    |     | 相関係数             | 有意差                    |     |
| GNRI         | -0.25          | $1.75 \times 10^{-15}$ | *** | 0.26             | $2.68 \times 10^{-14}$ | *** |
| 上腕周囲長        | -0.13          | 0.0003                 | *** | 0.43             | $2.12 \times 10^{-9}$  | *** |
| 上腕三頭筋脂肪厚     | 0.35           | 0.03                   | *   | 0.84             | 0.87                   | ns  |
| 上腕筋周囲長       | -0.43          | 0.007                  | **  | -0.10            | $8.79 \times 10^{-8}$  | *** |
| 総タンパク        | 0.42           | 0.008                  | **  | 0.49             | 0.66                   | ns  |
| アルブミン        | -0.16          | 0.0005                 | *** | 0.14             | 0.01                   | **  |
| 総コレステロール     | -0.11          | $1.28 \times 10^{-10}$ | *** | 0.17             | $2.95 \times 10^{-10}$ | *** |

目で正の相関が得られ、上腕三頭筋脂肪厚で  $p < 0.05$ 、総タンパクで  $p < 0.01$  という有意差が認められた。sIgA 分泌総量との比較では GNRI、上腕周囲長、上腕三頭筋脂肪厚、総タンパクの4項目で正の相関が得られ、GNRI、上腕周囲長の2項目では  $p < 0.001$  という強い有意差が認められた。

### 考察

#### 1. 唾液の採取方法の違いによる唾液成分濃度への影響について

唾液採取を Salivette、SaliCap を用いて行ったところ、SaliCap による唾液採取で全検体混濁が認められたが、Salivette による唾液採取で全検体透明であった。Salivette では唾液を吸収体に浸み込ませる過程があり、この過程により混濁物質が吸収体に吸着されたと考えられる。Salivette の唾液採取方法は吸収体を噛む時間が1分間と採取時間が決まっており十分に唾液分泌しないまま採取を終える可能性があり、また吸収体に唾液を吸収させるために、唾液採取中に唾液量が見えないことから唾液量が少ない検体が9検体見られた。一方、SaliCap による唾液採取は採取中に唾液量が見えることから、唾液量が不足することはなかった。しかし、全検体が混濁しており、この混濁物質が測定項目に影響していると考えられる。

採取方法と唾液中の各測定項目の濃度、保存までの時間、採取時刻を検討したところ、唾液 AMY は Salivette では平均6134 IU/L、SaliCap では平均7024 IU/L であり、Salivette で採取した唾液 AMY 濃度が2000 IU/L 以下の検体において、

SaliCap で採取した唾液 AMY 濃度が6000 IU/L を超えた。両採取方法の AMY 濃度の平均から唾液 AMY 濃度は4000 ~ 9000 IU/L であると考え、Salivette では唾液を吸収する吸収体へ測定物質が吸着するとの報告もあり、AMY が吸収体へ吸着し低値 (2000 IU/L 以下) を示していると考えられる。採取から保存までの時間と唾液 AMY 濃度の検討では、両方法とも大きな変動はなく、採取時刻と唾液 AMY 濃度の検討においては、Salivette で3日間のうち2日で早朝 (6 : 00) に低値を示す検体が見られたが、こちらも前述のとおり AMY が吸収体へ吸着し低値を示したと考えられ、採取時刻とは関係のない変動であると考えた。唾液 sIgA 濃度は、Salivette では平均762 ng/mL、SaliCap では平均172 ng/mL と Salivette で採取した唾液 sIgA 濃度の方が高値 (約4倍) を示した。SaliCap で採取した唾液 sIgA 濃度は300 ng/mL 以下であるが、Salivette で採取した唾液 sIgA 濃度が1000 ng/mL を超える検体が見られた。また採取から保存までの時間と唾液 sIgA 濃度の検討においては、保存までの時間が0時間から2時間までは高値 (2338~5000 ng/mL) を示し、2時間以降は平均545 ng/mL と安定した値を示した。採取時刻と唾液 sIgA 濃度の検討においては、1時刻で Salivette で採取した唾液で1528 ng/mL と1000 ng/mL を超える検体が見られた。このことより、Salivette で採取した検体では唾液 sIgA 濃度に変動がみられると考えられるが、唾液 sIgA 濃度は50~200  $\mu$ g/mL であり<sup>1)</sup>、SaliCap で採取した唾液 sIgA 濃度の平均が172 ng/mL であることから、SaliCap で採取した唾液 sIgA 濃度は正確に測定できていると考えにくい。



唾液 CgA は、Salivette では平均9.9 pmol/mL、SaliCap では平均23.3 pmol/mL であった。また1検体 (Salivette で採取した CgA 163 pmol/mL) を除くと、Salivette の平均39 pmol/mL、SaliCap の平均64 pmol/mL、相関係数  $r = 0.394$  ( $p = 0.016$ ) と相関がみられた。唾液採取から保存までの時間と唾液 CgA 濃度の検討、採取時刻と唾液 CgA 濃度の検討では、両採取方法とも大きな変動はなく、両採取方法とも唾液 CgA 測定には適していると考えられる。唾液 EGF 濃度は、Salivette では平均821 pg/mL、SaliCap では平均1453 pg/mL と、SaliCap で採取した唾液中 EGF 濃度の方が高値を示した。また、SaliCap で2000 pg/mL 以上の高値を示し測定不可の検体もみられ、さらに平均濃度は高いと考えられる。Salivette、SaliCap の相関では、Salivette は低値 (500 pg/mL 以下) の検体で SaliCap が高値 (1000 pg/mL 以上) を示し、SaliCap が低値 (500 pg/mL 以下) の検体で Salivette が高値 (1000 pg/mL 以上) を示した。両採取方法による唾液 EGF 濃度には相関がみられなかった。また、唾液採取から保存までの時間と唾液 EGF 濃度の検討、唾液採取時刻と唾液 EGF 濃度の検討においても、両方法とも大きな変動がみられたが、前述のように両方法とも一方の方法で高値を示した検体が低値を示すなど大きく測定値が変動しているため、保存までの時間、採取時刻による変動はないと考える。

以上のことから、採取方法は Salivette、SaliCap どちらも簡便であるが、SaliCap は混濁しており、Salivette で採取した唾液で測定可能な検体で高濃度を示し測定不可の検体がみられた。SaliCap のような流涎法に比べて、Salivette のようなコットン素材などの唾液吸収体を利用した採取方法においては、ELISA による測定においてステロイドホルモンは高値を示し、sIgA は低値を示すとの報告もある。<sup>4)</sup> Salivette では、吸収された唾液の水分が遠心分離後、吸収体に一部残り、唾液成分が高値となる。また吸収体中の植物由来のホルモン物質が溶出して影響を及ぼす、吸収体に測定物質が吸着して濃度が

低下するなどの欠点が指摘されている。<sup>9)</sup>

今後、唾液採取方法が影響をおよぼす測定項目、その影響の詳細について、また各唾液成分の採取にどの採取方法が有用であるかを検討する。さらに唾液検体が一般化される可能性を検討するために、多くの検査項目を対象に唾液中成分濃度と血液中成分濃度の関係を研究する。

## II. 唾液検体測定による栄養評価の妥当性について

身体計測結果から、上腕筋周囲長が療養型病棟、介護老人保健施設ともに基準値より低値を示した。今回の身体計測を行った療養型病棟と介護老人保健施設の高齢者はともに運動能力が低下していることから、上腕筋周囲が全体で低値を示したと考える。

GNRI で療養型病棟ではリスクなしと中等度栄養障害の2峰性を示す結果をなした。これは療養型病棟内で骨折リハビリのために入院し比較的栄養状態が保たれている整形外科患者と骨粗鬆症を罹患し低栄養状態の慢性内科患者が混在しているためと考える。

唾液 sIgA 濃度および分泌総量で療養型病棟と介護老人保健施設で差が認められた。療養型病棟に入院する患者の多くが基礎疾患に骨粗鬆症をもち、骨脆弱性や筋委縮が原因の低栄養で入院していた。また、介護老人保健施設の入所者の多くが比較的栄養量が保たれているアルツハイマー型認知症であったことから、唾液中の sIgA の濃度、分泌総量の差は栄養状態の違いにより生じたものと考えられる。

唾液 sIgA と各栄養評価項目との比較では、療養型病棟で sIgA 濃度と多くの項目が相関を示し、介護老人保健施設では分泌総量と多くの項目が相関を示した。療養型病棟と介護老人保健施設での相関性の違いも基礎疾患に由来するものと考えられる。両施設ともに唾液 sIgA 濃度、分泌総量で多くの項目と相関がみられたことから、唾液 sIgA は栄養状態に強い相関性を有することが証明された。

## 結論

### I. 唾液の採取方法の違いによる唾液成分濃度への影響について

採取方法は Salivette、SaliCap どちらも簡便であった。SaliCap で採取した唾液は混濁しており、Salivette で採取した唾液で測定可能な検体で高濃度を示し測定不可の検体がみられたことから、混濁物質が測定値に影響を及ぼしている可能性がある。しかし、Salivette においても測定項目によっては吸収体への測定物質の吸着、水分の吸着により測定値に影響を与えている可能性がある。今後、Salivette が測定値に影響をおよぼす要因や唾液検体が一般化される可能性を検討するために、多くの検査項目を対象に唾液中成分濃度と血液中成分濃度の関係についての検討を要する。

### II. 唾液検体測定による栄養評価の妥当性について

介護老人保健施設の入所者は療養型病棟入院患者と比べて、唾液中の分泌型免疫グロブリンA濃度が低かった。これは療養型病棟と介護老人保健施設での基礎疾患の違いによるものであると考える。唾液中分泌型免疫グロブリンAは、濃度で上腕三頭筋皮下脂肪厚と総タンパク、分泌総量でGNRI、上腕周囲長、上腕三頭筋皮下脂肪厚といった栄養に関連する項目と相関がみられたため、栄養状態に密接に関連していることが示唆され、唾液中分泌免疫グロブリンAは栄養アセスメントに有用である。

今後、多くの唾液成分に有用な採取方法を確定し、また一般的な臨床検体としての唾液の有用性を確認することで、唾液の自己採取が可能となり、唾液の一般的な検査試料としての可能性を検討していく。

唾液 $\alpha$ -アミラーゼ活性によるストレス評価。臨床検査。2009. 53. 7. 807-818

- 3) Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. Psychoneuroendocrinology. 2001. 26. 165-173
- 4) Strazdins L, Meyerkort S, Brent V, D'Souza RM, Broom DH, Kyd JM. Impact of saliva collection methods on sIgA and cortisol assays and acceptability to participants. J Immunological Methods. 2005. 307. 167-171
- 5) 澤田真理子、清水惇、對東俊介、関川清一、川口浩太郎. 長期療養高齢者の日常生活における唾液中分泌型免疫グロブリンAの変動. 体力科学. 2008. 57. 241-248
- 6) 弘津公子. 地域高齢者の分泌型免疫グロブリンAとADL・食生活・QOLとの関係. 2008. 山口大学. 1-10
- 7) 大荷満生. 高齢者の栄養評価. 静脈結腸栄養. 2007. 22. 4. 1-17
- 8) 日本人の新身体計測基準値：日本栄養アセスメント研究会、身体計測基準値検討会
- 9) Granger DA, Kivlighan KT, Fortunato C, Harmon AG, Harmon AG, Hibel LC, Schwartz EB, Whemolua GL. Integration of salivary biomarkersw into developmental and behaviorally-oriented research: Problems and solutions for collecting specimen. Physiology Behavior. 2007. 92. 4. 583-590

## 参考文献

- 1) 鈴木裕子、東城庸介. 唾液腺の構造と唾液の機能. 臨床検査. 2009. 53. 7. 761-766
- 2) 廣瀬倫也、加藤実. 唾液を検体とした新しいストレス評価法 - 唾液クロモグラニンAおよび