



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	色素を用いた唾液量の簡便スクリーニングシートの開発
Author(s)	稲垣, 友理奈; 竹原, 順次; 本郷, 博久 他
Citation	北海道歯学雑誌, 37(1), 25-39
Issue Date	2016-09
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/63413
Type	journal article
File Information	37-01_04_Inagaki.pdf



原 著

色素を用いた唾液量の簡便スクリーニングシートの開発

稲垣友理奈¹⁾ 竹原 順次¹⁾ 本郷 博久¹⁾ 中村 公也²⁾ 兼平 孝¹⁾

抄 録：高齢者において，口腔乾燥症を早期に診断し適切に対処することは，健康維持増進および健康寿命の延伸に重要である．口腔乾燥症の診断においては，安静時唾液量の評価は必須である．

我々はすでにペーパークロマトグラフィーの原理を利用した簡便診断用シートを考案し，口腔乾燥症のスクリーニングに利用できることを報告した．しかし，このシートはいくつか改良すべき点があった．今回シートに吸着させた色素を唾液の浸透により移動させることに着目し，その目的に適した色素を見つけるために，食品添加物を中心に様々な色素を用いて評価を行った．また，その中で評価に最適と評価された色素を吸収させたシートを用いて，外来受診者を被験者として，安静時唾液量を評価した．

今回，評価に供した色素は食品色素を中心に，赤色3，黄色2，青色1，緑色1，紫色2，褐色2の計11種である．短冊状濾紙（21mm×70mm）の先端部に50μLの各色素溶液を浸透させ，乾燥後，評価用シートとした．50～600μLの唾液をシャーレに取り，各色素を吸着させた評価シートに唾液を2分間吸収させた後，色素の伸展距離（mm）を測定し，最適な色素を決定した．その結果，最適な色素は褐色のメラノイジンであることが明らかとなった．

次に北海道大学病院歯科診療センターの受診者で本研究への協力の得られた被験者111名の舌下部にメラノイジンを吸着させた評価シートを2分間挿入し，唾液によるメラノイジンの伸展距離（mm）を測定した．また，安静時唾液量（10分間）を測定し，1 ml/10分以下の者を口腔乾燥症と判定した．安静時唾液量と色素の伸展距離の間には，高い正の相関（Spearmanの相関係数， $r=0.738$ ， $p<0.05$ ）が認められた．次に最適なカットオフ値を決定するために，色素の伸展距離0～10mmにおける，それぞれのスクリーニング感度と特異度からROC曲線ならびに陽性尤度比，Youden's IndexおよびROC曲線上における各スポットと点（0，1）との距離を求めた．

その結果，口腔乾燥症をスクリーニングする上での最適なカットオフ値は4 mmであることが明らかとなった．また，同時に作成したカプサイシンまたはクエン酸溶液をメラノイジンと同時に浸透させた刺激時唾液診断用シートにより，刺激時唾液の評価も可能であることが示唆された．

キーワード：口腔乾燥症，食品色素，唾液分泌量，カットオフ値，スクリーニング

緒 言

我が国における高齢社会の到来と共に，“健康寿命”という言葉が語られるようになって久しい．健康寿命とは，健康上の問題がなく日常生活を普通に送れる状態を指す．

近年，健康寿命と口腔には密接な関係があることが知られるようになり，口腔が健康で摂食・嚥下機能が維持されることが健康寿命の延伸に寄与することが明らかになっていく¹⁾．

この摂食・嚥下機能で重要な位置を占めているのが口腔内の潤滑剤としての唾液であり，口腔が正しく機能するた

めには不可欠のものである．その唾液の分泌が減少することで起こる口腔乾燥症は，咀嚼・嚥下を初めとする様々な口腔機能を障害し，健康寿命の延伸を妨げかねないと考えられている²⁾．

口腔乾燥症に罹患する者は主に中高年以降の男女であるが，近年は若年者にも広がっている．平成20年度厚生労働省の調査³⁾によれば，高齢者においていつも口腔乾燥感を自覚している者は27.7%であり，軽度の乾燥感を含めると56.7%の高率であった．65歳未満の年齢層においても，いつも乾燥感を自覚する者が10.5%，軽度を含めると35.1%であることから，年齢に関係なく口腔乾燥症が認められる．

¹⁾ 〒060-8586 札幌市北区北13条西7丁目
北海道大学大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 予防歯科学教室（主任：兼平 孝 准教授）

²⁾ 〒060-8648 札幌市北区北14条西5丁目
北海道大学病院 高次口腔医療センター

さて、口腔乾燥症は、主に安静時唾液の分泌量低下⁴⁻⁵⁾によって起こる口腔内症状（咀嚼や嚥下の障害⁶⁻¹⁰⁾、う蝕や歯周病の増悪¹¹⁻¹²⁾、強い口臭¹³⁻¹⁴⁾、口腔カンジダ菌の感染¹⁵⁻¹⁸⁾、床義歯の不適合¹⁹⁾、口腔粘膜の疼痛や灼熱感²⁰⁻²¹⁾、味覚障害²²⁾など）を特徴とする疾患であるが、その原因として、加齢²³⁻²⁵⁾や常用薬剤の副作用²⁶⁻²⁹⁾、更年期障害などのホルモン異常³⁰⁻³¹⁾、全身の水分代謝障害³²⁾などが指摘されている。

高齢者にとって、口腔乾燥症はこうした症状による日常生活の質（Quality of Life）の低下をもたらすだけでなく、唾液による口腔内の自浄作用が阻害されることにより、誤嚥性肺炎の原因にもなりうる³³⁻³⁵⁾。

それゆえ、高齢者において口腔乾燥症を早期に診断し、適切に対処することは、誤嚥性肺炎の予防ならびに全身および口腔の健康維持増進にとどまらず、健康寿命の延伸に重要である³⁶⁾。

口腔乾燥症の診査は、従来では診査者による口腔粘膜の視診が中心で、的確な診断を行うためには臨床経験に基づいた熟練が必要とされ、得られた結果も客観性や定量性に欠けるものが多かった。また、視診以外の口腔乾燥症の検査方法には、唾液量を測定するもの（安静時唾液：吐唾法³⁷⁻³⁸⁾、ワッテ法^{38, 41-43)}、刺激時唾液：ガム法^{37, 44-45)}、サクソン法³⁸⁻⁴⁰⁾など）、口腔粘膜の湿潤度を調べるもの（口腔水分計^{37-38, 46-50)}）、唾液湿潤度検査紙（エルサリポ^{29, 37, 51-54)}など）があるがそれぞれ利点や欠点があることから、臨床的にはいくつかの方法を組み合わせて実施し、総合的に評価を行うことが望ましいとされる。

そうした背景から、歯科診療室における臨床や集団歯科健診の場で手軽にできる口腔乾燥症のスクリーニング方法が求められている。

そのため我々は、ペーパークロマトグラフィーの原理とヨードデンプン反応による発色を利用した濾紙製の口腔乾燥症判定シートを開発し、その有用性について山口⁵⁵⁻⁵⁶⁾らが報告したが、安静時唾液量の定量的評価、簡便性や発色液の刺激性など臨床的に使用するには改良すべき点が少なくなかった。

そうしたことから我々は、シートに吸着、乾燥させた色素を唾液の浸透により移動させることに着目した。その目的に適した最適な色素を見つけるために、食品添加物を中心に様々な色素を用いて評価を行った。また、その中で最適と評価された色素を吸収させた判定シートを用いて、外来受診者を被験者として、過去の報告⁵⁵⁻⁵⁷⁾と同様の安静時唾液量と刺激時唾液量の評価を行った。安静時唾液量に関しては、得られた結果を統計的に処理し、色素の延伸距離から口腔乾燥症とスクリーニング判定されるカットオフ値を求めた。

対象と方法

1. 種々の色素を吸着させた評価用シートによる唾液の吸収、色素の伸展試験

1) 評価に用いた色素と調整

今回、評価に供した色素は、赤色色素としてコチニール色素（キリヤ化学）、ベニコウジ色素（キリヤ化学）、歯垢染色液DENT[®]（ライオン）、黄色色素として食用色素黄色4号（三幸）と希ヨードチンキ溶液（ヤクハン製薬）、青色色素としてクチナシ色素（キリヤ化学）、緑色色素としてクロロフィル（東京化成工業）、紫色色素としてシソ色素（キリヤ化学）とアントシアニン（赤ぶどうより抽出）、褐色色素としてカカオ色素（和光純薬）とメラノイジン（グルコースとグリシンより合成）の計11種類である。

希ヨードチンキ溶液と歯垢染色液DENT[®]は原液をそのまま使用、クチナシ色素とシソ色素は原液を5倍希釈、コチニール色素、ベニコウジ色素、食用色素黄色4号、クロロフィル、カカオ色素はいずれも粉末を蒸留水に溶解（50 mg/mL）して用いた。

アントシアニンは、赤ブドウ（キャンベル種、余市原産）から抽出した。赤ブドウを粉碎後、発酵ジャーに封入し、室温で2週間アルコール発酵させた後、遠心（10分間、2000rpm）した上清をアントシアニン色素溶液とした。

メラノイジン溶液は、Borrelliらの方法⁵⁸⁾により合成した。蒸留水20mLにグルコース（9.00g、和光純薬）とグリシン（3.75g、和光純薬）を溶解させ、加熱（120℃、45分間）して粗精製のメラノイジンを得た後、未反応のグルコースとグリシンを除去するためにゲルろ過クロマトグラフィー（Sephadex G-25, Pharmacia Fine Chemical、カラム径2.8×30cm）を行って、メラノイジン分画を分離・濃縮し、メラノイジン色素溶液とした。

2) 評価用シートの作製

短冊状（21×70mm）に裁断し、1mmの間隔で目盛を印刷したペーパークロマトグラフィー用濾紙（東京濾紙、厚さ0.7mm）の片方の先端部に色素のスポット部分がほぼ同じ面積（9.4±0.5×21mm）になるように40～50μLの各色素溶液を吸着させ、自然乾燥後、オートクレーブで高圧滅菌を行い、評価用シートとした（図1）。

3) 吸収試験用の唾液採取

著者ら3名から採取した安静時唾液（吐唾法、15分間）を混合した後、遠心（10,000rpm、10分間）し、得られた上清（計30mL）を使用時まで-30℃で保存した。

4) 評価用シートへの唾液の吸収試験

3)で採取した唾液をシャーレに取り、各色素を吸着させた評価用シートに2分間吸収させた。吸収させた唾液

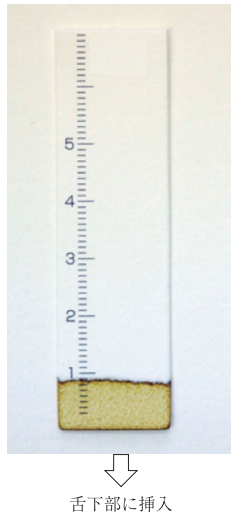


図1 評価用シート

量 (μL) は、50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600である。いずれも2分後の色素の伸展距離 (mm) を測定し、各色素において直線的に色素が伸展する唾液量と色素伸展距離の最大値を評価した。なお、吸収試験はそれぞれの唾液量において各5回行い、平均値を求めた。

2. 最適な色素を吸着させた評価用シートによる外来受診者の唾液量のスクリーニング試験

1) 被験者

被験者は、本研究の趣旨と内容について十分な説明を行い、研究協力への承諾を得た北海道大学病院歯科診療センター予防歯科診療室の受診者111名（男37名、女74名、年齢13～78歳）である。

2) 評価用シートの作製

シートは、1の研究で最適と判断された色素溶液50 μL を前述の短冊状濾紙の片方の先端部に吸着させて作製した。作製した評価用シートは、口腔粘膜との付着を防止するために、色素のスポット部を中心に非塩素系5層構造ポリエチレン・ポリプロピレン耐熱ラップ（日本紙パック株式会社）で被覆し、シート全体をアルミニウム箔で包装し、オートクレーブにて高圧滅菌を行い、乾燥後、冷蔵（4℃）で保管した。

3) 安静時唾液量の測定

被験者に対して、唾液採取2時間前からの飲食および喫煙の禁止を事前に指示した上で、歯科診療センター予防歯科診療室で採取20分前に水で口腔内を含嗽させ、座位にて吐唾法（10分間）により安静時唾液を採取した。10分後に計量を行い、その被験者の安静時唾液量 (mL) とした。

4) 評価用シートによる唾液の吸収試験

評価用シートを先端部より被験者の舌下部に挿入し、軽く閉口させ（図2）、2分後に口腔外に取り出し、色素の伸展距離 (mm)（図3）を計測した。1回目の試験の10分後に2回目の試験を実施し、2回のデータに大きな差は認められなかったため、平均値をその被験者の伸展距離とした。



図2 被検者の舌下部に挿入した本評価シート

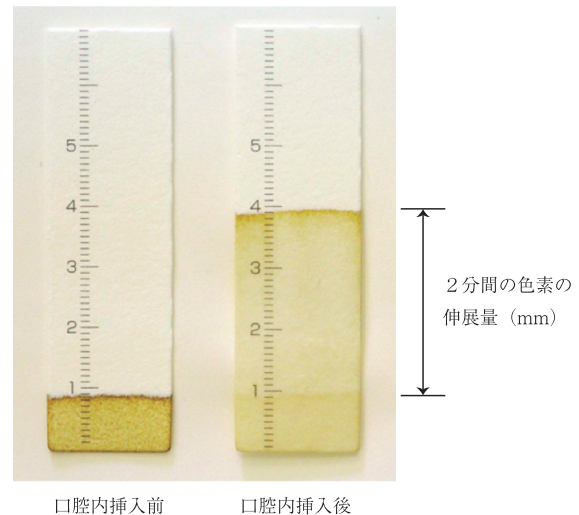


図3 口腔内への挿入前と挿入後（2分後）の評価用シート

評価用シートを先端部より被験者の舌下部に挿入し、軽く閉口させ、2分後に口腔外に取り出し、色素の伸展距離 (mm) を測定した。1回目の試験の10分後に2回目の試験を実施し、平均値をその被験者の伸展距離とした。

5) 統計的処理

IBM SPSS Statistics 20を用いて、評価シート上の色素の伸展量と10分間の安静時唾液量の相関係数（Spearmanの順位相関係数, $p < 0.05$ ）を求めた。また、10分間の安静時唾液量が1.0mL以下の場合を「口腔乾燥症群」、1.0mLより大きい場合を「正常群」と診断した⁴⁵⁾。次に色素の伸展距離0～10mmの間でそれぞれの値をカットオフ値に設定、カットオフ値以下の者を「口腔乾燥症群」、カットオフ値より大きい者を「正常群」と分類し、それぞれのカットオフ値における感度と特異度を算出し、感度と偽陽性率（1－特異度）からROC曲線を作成した。また、最適なカットオフ値を決定するために、感度と特異度に加えて、

Youden's index (感度 + 特異度 - 1), 陽性尤度比 (感度 / 偽陽性率) およびROC曲線上における各カットオフ値における点 (感度, 偽陽性率) と点 (0, 1) との距離を求めた⁵⁹⁾.

3. 刺激時唾液評価用シートによる外来受診者の刺激唾液のスクリーニング試験

1) 被験者

2. 1) と同様, 研究協力への承諾を得た北海道大学病院歯科診療センター予防歯科診療室の, 口臭が気になることを主訴に来院した受診者23名 (男6名, 女17名, 年齢22~74歳) である.

2) 刺激時唾液評価用シートの作製

2. 2) で作製した評価用シートの滅菌前にクエン酸水溶液 (3000 μ g/mL) またはカプサイシン溶液 (1.4 μ g/mL, エタノール溶解) を各60 μ Lを先端部に追加吸収させて, オートクレーブにて高圧滅菌, 2種類の刺激時唾液評価用シートを作製した. なお, クエン酸, カプサイシンの最適濃度は, 以前の報告⁵⁷⁻⁵⁸⁾ から決定した.

3) 安静時唾液量の測定

2. 3) と同じ方法で10分間の安静時唾液の計量を行った.

4) 評価用シートによる唾液の吸収試験 (1・2回目: 安静時唾液評価用シート)

2. 4) と同じ方法で実施した.

5) 評価用シートによる唾液の吸収試験 (3回目: クエン酸添加刺激時唾液評価用シート)

2回目の唾液の吸収試験から20分後に2) で作製したクエン酸添加刺激時唾液評価用シートを先端部より舌下部に挿入し, 軽く閉口させた. 2分後に口腔外に取り出して, 色素の伸展距離 (mm) を計測した.

6) 評価用シートによる唾液の吸収試験 (4回目: カプサイシン添加刺激時唾液評価用シート)

3回目の唾液の吸収試験後に1分間, 水で口腔内を軽く含嗽させ, 20分後に2) で作製したカプサイシン添加刺激時唾液評価用シートにより, 3. 5) と同様の方法で実施した.

7) データの分析

3) で計量した10分間の安静時唾液量に基づいて, 安静時唾液量が1.0mL以下の場合を「口腔乾燥症群」, 1.0mLより大きい場合を「正常群」と被験者を群分けし, クエン酸, カプサイシンを吸収させた2種類の刺激時唾液評価用

シートによる色素の伸展量を比較した (Student t-test, $p < 0.05$).

4. 倫理的配慮

本研究は, 北海道大学病院高度先進医療支援センター自主臨床試験事務局へ研究プロトコルを提出し, 承認を得たものである (平成25年度, 臨床研究番号: 自012-0426).

研究対象者の人権擁護上の配慮, 研究遂行による利益と不利益, インフォームドコンセントなどについては十分配慮するため, ヘルシンキ宣言を基本とした東京での修正案を尊重した被験者の人権および利益の保護に配慮した研究計画を策定した. また, 疫学研究に関する倫理指針 (平成14年6月17日文科科学省・厚生労働省告示第2号) および疫学研究に関する倫理指針の施行等について (平成14年6月17日付け文科科学省研究振興局長・厚生労働省大臣官房厚生科学課長連名通知) に基づき研究を実施した. なお, 平成27年からは統合された新指針「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に基づき研究を実施した.

結 果

1. 種々の色素を吸収させた評価用シートによる唾液の吸収および色素の伸展試験 (表1)

1) 赤色色素

(1) コチニール色素

シート上の色素の伸展距離は吸収させた唾液量に比例したが, 唾液量500 μ Lで約29mmのピークに達した.

(2) ベニコウジ色素

シート上の色素の伸展距離は吸収させた唾液量に比例したが, 唾液量450 μ Lで約24mmのピークに達した.

(3) 歯垢染色液DENT[®] (図4)

シート上の色素の伸展距離は吸収させた唾液量に比例し, 唾液量500 μ Lで約29mmまで伸展した.

2) 黄色色素

(1) 食用色素黄色4号

シート上の色素の伸展距離は吸収させた唾液量に比例したが, 唾液量350 μ Lで約21mmのピークに達した.

(2) 希ヨードチンキ溶液

シート上の色素の伸展距離は吸収させた唾液量に比例したが, 唾液量350 μ Lで約9mmのピークに達した.

3) 青色色素

(1) クチナシ色素

シート上の色素の伸展距離は吸収させた唾液量に比例したが, 唾液量300 μ Lで約20mmのピークに達した.

表1 評価用シートによる唾液の吸収試験

色 素	唾液量 (μL)											
	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550	600
コチニール色素	0	2.7±0.6	9.5±0	11.1±0.9	16.2±0.3	18.8±0.3	22.8±0.8	27.2±0.3	27.6±1.1	28.5±0.6	28.7±0.3	28.1±1.3
ベニコウジ色素	0	0	3.0±0	6.0±0.5	10.3±0.3	13.7±0.6	17.2±0.3	22.5±0.5	23.8±0.3	23.7±0.6	23.5±0.9	23.6±0.3
歯垢染色液DENT®	0	2.7±0.3	6.5±0.5	9.8±0.6	12.8±0.8	13.7±0.8	17.6±1.0	21.3±1.3	26.5±2.0	29.3±1.0	28.7±1.5	30.0±0.5
食用色素黄色4号	0	1.8±0.3	5.8±0.3	8.7±0.8	11.2±1.0	16.0±0.5	20.5±1.0	20.8±0.8	21.0±1.0	20.7±0.8	20.3±0.6	20.3±0.8
希ヨードチンキ溶液	0	1.0±0.9	2.8±0.3	5.5±0.9	6.2±0.3	6.7±0.6	8.7±1.2	9.3±0.3	10.2±0.3	9.8±0.3	10.0±0.5	10.5±0.5
クチナシ色素	0	4.0±1.4	6.3±0.3	12.3±0.3	16.2±0.3	20.0±0.5	19.7±0.3	19.8±0.8	20.2±0.6	22.0±0.4	22.0±0	23.0±0.5
クロロフィル	0	0	0.2±0.3	0.2±0.3	0.5±0	0.5±0	0.2±0.3	0.3±0.3	0.3±0.3	0.4±0.2	0.3±0.3	0.3±0.3
シソ色素	0	0	4.2±0.3	7.5±0.5	12.8±0.3	14.8±0.6	18.3±0.6	18.3±0.8	17.9±0.6	18.3±0.6	18.7±0.6	18.2±0.8
アントシアニン	0	1.5±0.5	2.2±0.3	2.5±0.5	2.7±0.3	2.7±0.3	2.7±0.3	2.5±0.5	2.7±0.8	2.8±0.8	2.5±0.5	2.8±0.3
カカオ色素	0	0	0.5±0.4	0.8±0.3	0.7±0.3	0.8±0.3	0.8±0.3	0.8±0.5	0.8±0.3	0.9±0.3	0.9±0.5	0.8±0.3
メラノイジン	0	3.0±0.1	9.0±0.1	14.0±0.1	19.0±0.1	24.0±0.2	28.0±0.3	31.0±0.2	34.0±0.2	36.0±0.2	37.0±0.3	39.0±0.3

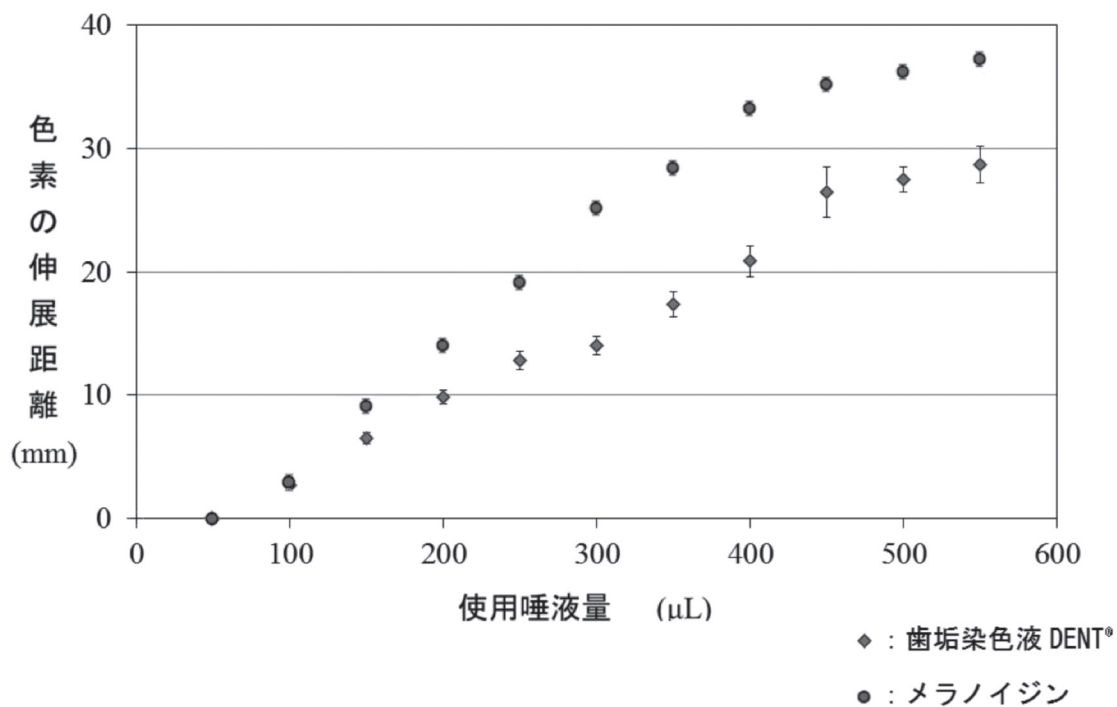


図4 歯垢染色液DENT®およびメラノイジンによる使用唾液量 (μL) と色素伸展距離 (mm) の関係

4) 緑色色素

(1) クロロフィル

唾液の吸収によるシート上の色素の伸展はほとんど認められなかった。

5) 紫色色素

(1) シソ色素

シート上の色素の伸展距離は吸収させた唾液量に比例したが、唾液量350μLで約18mmのピークに達した。

(2) アントシアニン

シート上の色素は吸収させた唾液量により徐々に伸展したが、唾液量200μLで約3mmのピークに達した。

6) 褐色色素

(1) カカオ色素

唾液の吸収によるシート上の色素の伸展はほとんど認められなかった。

(2) メラノイジン (図4)

シート上の色素の伸展距離は吸収させた唾液量に比例し、唾液量450μLで約34mmまで伸展した。

以上の結果から、色素の伸展距離が吸収された唾液量をよく反映するメラノイジンが本スクリーニングシートに使用する色素として最適であることが再確認される結果となった。

2. メラノイジンを吸着させた評価用シートによる外来受診者の安静時唾液量のスクリーニング試験

1) メラノイジンの伸展距離と10分間の安静時唾液量の関係

1の結果からメラノイジンを吸着させた評価用シート（以下、メラノイジンシートと略）を作製し、111名の外来被験者に対して本スクリーニングテストを実施したところ、図5のように、メラノイジンの伸展距離（mm）と安静時唾液量（mL）との間には、高い正の相関（Spearmanの順位相関係数、 $r=0.738$, $p<0.05$ ）が認められた。

2) メラノイジンシートによる口腔乾燥症のスクリーニング試験

色素の伸展距離0～10mmの間でそれぞれカットオフ値を設定、カットオフ値に基づいて被験者を「口腔乾燥症群」、「正常群」に分類し、それぞれのカットオフ値から求めた感度と特異度（表2）、偽陽性率、Youden's index、陽性尤度比、ならびに感度と偽陽性率から作成したROC曲線（図6）上における各カットオフ値における点（感度、偽陽性率）と点（0, 1）との距離を示した（表3）。

(1) 感度と特異度

カットオフ値を0～2mmに設定した時は特異度が高いが感度が低く、3～5mmに設定した時は感度、特異度も0.8を超えた。6～10mmに設定した時、感度は高くなったが特異度が下がった。それらの値から適切なカットオフ値は、3～5mmであることが示唆された。

(2) Youden's index

カットオフ値を3～6mmに設定した時にいずれも0.7よ

り高かった。最大値はカットオフ値が6mmの時に0.719であった。

表2 色素の伸展距離0～10mmの間でカットオフ値を設定した時の感度と特異度

カットオフ値 (mm)	試験結果	口腔乾燥症		感 度	特異度
		(+)	(-)		
0	(+)	9	1	0.450	0.989
	(-)	11	90		
1	(+)	12	5	0.600	0.989
	(-)	8	86		
2	(+)	15	8	0.750	0.912
	(-)	5	83		
3	(+)	16	9	0.800	0.901
	(-)	4	82		
4	(+)	17	9	0.850	0.857
	(-)	3	82		
5	(+)	18	18	0.900	0.802
	(-)	2	73		
6	(+)	19	21	0.950	0.769
	(-)	1	70		
7	(+)	19	23	0.950	0.747
	(-)	1	68		
8	(+)	19	25	0.950	0.725
	(-)	1	66		
9	(+)	20	27	1.000	0.703
	(-)	0	64		
10	(+)	20	29	1.000	0.681
	(-)	0	62		

色素の伸展距離0～10mmの間でそれぞれの値をカットオフ値に設定、カットオフ値以下の者を「口腔乾燥症群」、カットオフ値より大きい者を「正常群」と分類し、それぞれのカットオフ値における感度と特異度を算出した。

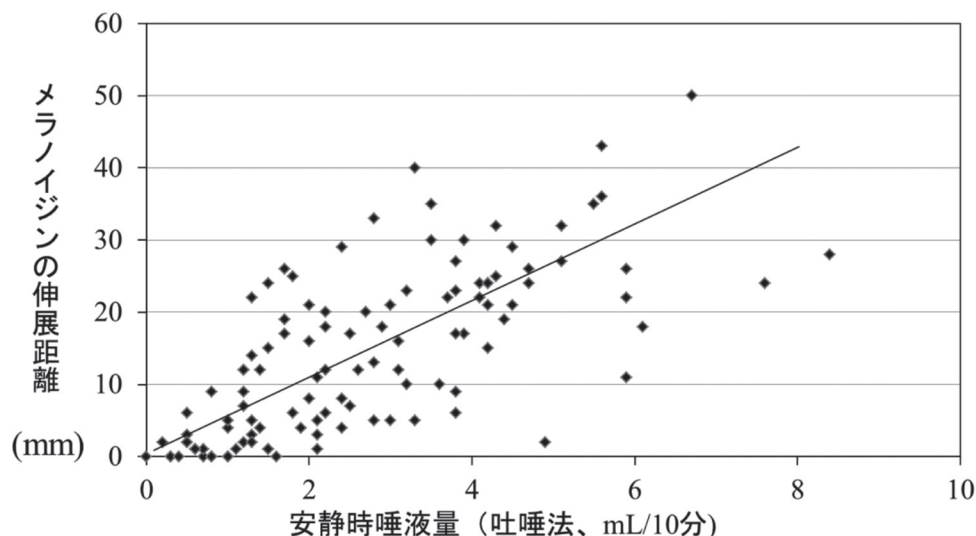


図5 安静時唾液量（mL/10分）とメラノイジンの伸展距離（mm）

吐唾法による10分間の安静時唾液量（mL）と安静時唾液評価用シート上のメラノイジン伸展距離（mm）をプロットし、相関係数（Spearmanの順位相関係数、 $r=0.738$, $p<0.05$ ）を求めた。

表3 メラノイジンシートによる口腔乾燥症のスクリーニング試験

カットオフ値 (mm)	感 度	特異度	偽陽性率 (1 - 特異度)	Youden's index (感度 + 特異度 - 1)	陽性尤度比 (感度 / 偽陽性率)	点 (0, 1) からの 距離
0	0.450	0.989	0.011	0.439	40.90	0.550
1	0.600	0.945	0.055	0.545	10.91	0.404
2	0.750	0.912	0.088	0.662	8.52	0.265
3	0.800	0.901	0.099	0.701	8.08	0.223
4	0.850	0.857	0.143	0.707	5.94	0.207
5	0.900	0.802	0.198	0.702	4.55	0.222
6	0.950	0.769	0.231	0.719	4.11	0.236
7	0.950	0.747	0.253	0.697	3.75	0.258
8	0.950	0.725	0.275	0.675	3.45	0.280
9	1.000	0.703	0.297	0.703	3.36	0.297
10	1.000	0.681	0.319	0.681	3.13	0.319

色素の伸展距離0～10mmの間でそれぞれカットオフ値を設定、被験者を「口腔乾燥症群」、「正常群」と分類し、それぞれのカットオフ値から求めた感度と特異度、偽陽性率、Youden's index、陽性尤度比、ならびに感度と偽陽性率から作成したROC曲線(図15)上における各カットオフ値における点(感度、偽陽性率)と点(0, 1)との距離を示した。

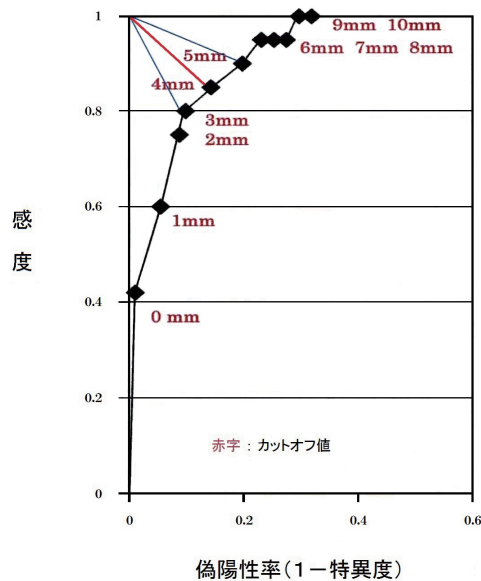


図6 ROC曲線上における各カットオフ値における点(感度、偽陽性率)と点(0, 1)との距離

色素の伸展距離0～10mmの間でそれぞれの値をカットオフ値に設定、カットオフ値以下の者を「口腔乾燥症群」、カットオフ値より大きい者を「正常群」と分類し、それぞれのカットオフ値における感度と特異度を算出し、感度と偽陽性率（1 - 特異度）からROC曲線を作成した。カットオフ値を4mmに設定した時に点(0, 1)からの距離が0.207と最小であることから、最適なカットオフ値は4mmであることが明らかとなった。

(3) 陽性尤度比

カットオフ値を0～4mmに設定した時に5以上であった。

(4) ROC曲線上における各カットオフ値における点(感度、偽陽性率)と点(0, 1)との距離

カットオフ値を4mmに設定した時に0.207と最小値であった。

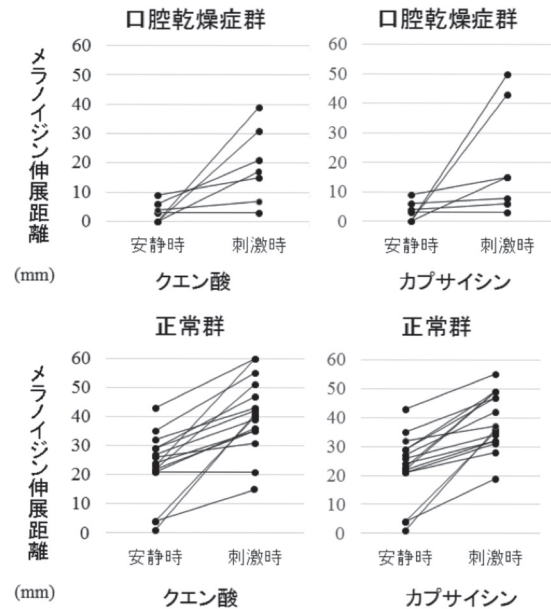


図7 安静時唾液評価用シートと刺激時唾液評価用シートにおけるメラノイジン伸展距離の比較

10分間の安静時唾液量に基づいて、被験者23名は、口腔乾燥症群（安静時唾液量が1.0mL以下の場合）7名（安静時唾液量：0.7±0.3mL）、正常群（同、1.0mLより大きい場合）16名（同：4.4±3.2mL）に群分けし、クエン酸、カプサイシンを吸収させた2種類の刺激時唾液評価用シートによるメラノイジン色素の伸展距離を比較した。

以上の結果から、メラノイジンシートによる口腔乾燥症のスクリーニング検査において、最適なカットオフ値は4mmであること、また、4mmに達するのに必要な唾液量は約110μL/2分間であることが示唆された。

3. 刺激時唾液評価用シートによる刺激唾液量の吸収試験

1) 口腔乾燥症群と正常群の安静時唾液量

10分間の安静時唾液量から被験者23名は、口腔乾燥症群

表4 口腔乾燥症群と正常群における刺激時唾液評価用シートによるメラノイジン伸展距離

	メラノイジン色素伸展距離 (mm)		
	安静時唾液評価用シート挿入時	クエン酸添加刺激時唾液評価用シート挿入時	カプサイシン添加刺激時唾液評価用シート挿入時
口腔乾燥症群	3.1 ± 0.5	19.0 ± 15.5	20.1 ± 20.4
正常群	22.7 ± 11.4	41.3 ± 14.0	38.9 ± 9.8

*p<0.05

10分間の安静時唾液量に基づいて、被験者23名は、口腔乾燥症群7名（安静時唾液量：0.7±0.3mL）、正常群16名（同：4.4±3.2mL）に群分けし、クエン酸、カプサイシンを吸収させた2種類の刺激時唾液評価用シートによるメラノイジン色素の伸展距離を比較した。

（安静時唾液量：0.7±0.3mL）は7名、正常群（同：4.4±3.2mL）16名に分類された（表4）。

2) 刺激時唾液評価用シートによるメラノイジン伸展量

安静時唾液メラノイジンシート、クエン酸添加メラノイジンシート、カプサイシン添加メラノイジンシートのいずれの挿入時においても口腔乾燥症群より正常群のメラノイジン伸展距離が有意に長かった（表4、p<0.05）。

個別のメラノイジン伸展距離を図7に示した。口腔乾燥症群では、クエン酸添加メラノイジンシート、カプサイシン添加メラノイジンシート挿入時のいずれにおいても7名中3名がほぼ変化なく、4名のメラノイジン伸展距離が増加した。正常群では、クエン酸添加メラノイジンシート挿入時に16名中1名のみ変化なしであったが、カプサイシン添加メラノイジンシート挿入時には全員のメラノイジン伸展距離が増加、すなわちカプサイシンによる唾液分泌促進効果が認められた。

考 察

1. 現行の口腔乾燥状態の評価法の現状

近年、歯科臨床（高齢者歯科医療、がん周術期口腔管理など）または成人歯科健診の現場では、受診者の現症のひとつとして口腔乾燥度を評価しなければならないことが多い。

う蝕や歯周病に加えて、口腔清掃状態の不良や義歯の不適合、咀嚼や嚥下の障害、口臭、口腔粘膜の疼痛、口腔ケアの必要性の是非など、診断に至る過程で、口腔乾燥を背景や要因のひとつとして考慮しなければならない症状・疾患は多岐にわたる。

口腔乾燥の評価は多くの場合、粘膜上の水分量や唾液の性状などの視診によるものが中心で、診査者に豊富な臨床経験が必須であるのに対し、やや客観性や定量性に欠ける。そのため、初心者でも評価可能なスクリーニング法が求められ、様々な方法・装置が考案されている。

その中で最も古典的な安静時唾液量の評価法ともいえる吐唾法は、唾液流量から定量的な測定が可能であり、結果に対する信頼性も高い^{37, 38)}。安静時唾液の多寡は口腔粘膜の乾燥度と密接に関連していることは多くの研究で知られ

ているからである⁶⁰⁾。しかし、最低10～15分間と長い測定時間を必要とするため、集団歯科健診の現場での利用は現実的に難しく、また、認知症患者や要介護高齢者では唾液を吐き出させることが困難で、実施不可能な場合が多い⁴¹⁾。また、ワッテ法^{38, 41-43)}は短時間で診査できる利点を有するものの、定量的な評価が難しいなどの欠点を有する。

口腔水分計は、口腔粘膜上皮の静電容量を測定することで水分量を判定するものであり、乾燥度の上昇すなわち水分量の低下により測定値は下がる。測定時の圧力に左右されやすいため値がばらつきやすく、数回の測定を行って平均値をとる必要がある⁴⁶⁻⁵⁰⁾。また、著者らの経験では、被験者の舌に舌苔が大量に付着している場合や舌乳頭が厚い場合は、それ自体に保水作用があるため、舌表面の水分値が実際の口腔乾燥状態を反映していない値となることも多い。逆に舌乳頭が萎縮した平滑舌では、唾液分泌量が正常でも唾液を保水できないため、値が低くなる。

唾液湿潤度検査紙（エルサリボ）は、試験紙がやや高価であることと定量的な評価が難しいこと、やはり舌苔が厚く付着している被験者や平滑舌の被検者の場合には実際の口腔乾燥状態を反映しない値が出やすいなどの欠点を有する⁵¹⁻⁵⁴⁾。こうしたことから、口腔水分計や唾液湿潤度検査紙（エルサリボ）は、測定部位の水分量を調べ唾液の分布状態を評価することが可能なため、ひとつのスクリーニングとして有用であるものの、口腔内全体の乾燥度を評価するには欠点も多い。

次に、刺激唾液量の評価は、唾液分泌の残存能力・余力を評価するのに適していることから、口腔乾燥症を診断する上で重要視されてきた。しかし、刺激唾液量は安静時唾液量とは必ずしも相関していないこと、明らかに口腔乾燥症の症状を呈しているにもかかわらず、刺激唾液量は正常である症例が少なくないことなどから、刺激唾液量単独ではなく安静時唾液量も同時に計測して総合的に評価すべきであると考えられている^{45, 61)}。

刺激唾液流量の評価法であるガム法^{37, 44-45)}やガーゼの咀嚼によるサクソン法³⁸⁻⁴⁰⁾は、吐唾法と同様に定量的な測定が可能であり、結果に対する信頼性も高い。しかし、ガム法は10分間と比較的長い測定時間を必要とすること、咀嚼機能の低下している患者や義歯を装着している者にと

っては、ガムやガーゼの咀嚼が困難な場合もあり、正確な値を得にくいなどの問題がある。また、認知症の患者の場合、検査そのものに対する理解不足もあり、ガムやガーゼの咀嚼が不十分になりやすく、結果の信頼性が低いものになりやすい^{42, 43)}。

我々が以前に開発した濾紙製の口腔乾燥症判定シート⁵⁶⁻⁵⁷⁾は、ペーパークロマトグラフィーの原理とヨードデンプン反応による発色を利用したもので、スポット状にデンプンを塗布した濾紙製の短冊状シートを舌下に挿入し、唾液中のアミラーゼと反応したスポットの個数から唾液量を評価、口腔乾燥症をスクリーニングするものであった。しかし、発色スポットの個数だけでは、安静時唾液量の定量的評価が難しく、また発色させるためにシートを口腔内から撤去後に発色液を滴下する必要があることから簡便性に欠けていた。加えて、その発色液が過酸化水素水とエタノールを中心とした組成のため刺激性があり、手指に付着すると疼痛を覚えるなど実用上問題があったことから改良が必要であった。

以上のことから、現行では数多くの口腔乾燥状態の評価法があるものの、それぞれの利点欠点を十分理解した上、なるべく数多く実施して、総合的に判定することが求められている。

本研究で用いた、唾液による色素の伸展を利用した評価シートは、初心者でも手軽に利用できる口腔乾燥スクリーニングキットのひとつとして位置づけたものである。

2. メラノイジンシートによる唾液の吸収試験

1) 本評価シートに使用する色素としてのメラノイジンの優位性

本評価シートは、短冊状に裁断したペーパークロマトグラフィー用濾紙に色素溶液を吸着、乾燥させたものである。被験者の唾液量に応じて、濾紙の繊維に乾燥、固定されていた色素が唾液に溶解し、濾紙の内部を毛細管現象によって、唾液と共に移動していくことで色素の伸展が起こると考えられる。

今回、評価に用いた色素では、クロロフィル、アントシアニン、カカオ色素においては、唾液の吸収による色素の伸展がほとんど認められず、また、色素の最大伸展距離は希ヨードチンキ溶液で10mm、黄色4号、ベニコウジ色素、シソ色素、クチナシ色素はいずれも20mm程度、コチニール色素、歯垢染色液DENTで30mm程度であったのに対して、メラノイジンのそれは40mm近くまで伸び、最も伸展距離が長いことが改めて明らかとなった。

濾紙上における色素の伸展には、それぞれの色素の分子量や分子構造、電荷、唾液に対する溶解性、濾紙のセルロース繊維との親和性など様々な要因が関与しており、その詳細な機序は色素によって異なり、不明な点も多い。

本評価シートに使用する色素としてのメラノイジンの

有用性に関してはすでにKanehiraらが報告⁵⁷⁾しているが、その特性として、負の帯電性と高い親水性⁶²⁻⁶³⁾が知られており、そのことが唾液への溶解後の評価シート上での高い色素伸展性に寄与しているひとつの要因であることが推察されるが、それ以外の要因については今後、更に検討する必要がある。

また、本評価シートは口腔内に直接挿入するものであるため、生体への高い安全性が求められる。そのため今回の研究においては、すでに食品添加物として安全性の確認されている食品色素と実際に歯科臨床で用いられている色素を評価対象にした。そうした色素の中でもメラノイジンは、我々が日常的に摂取しているコーヒー、味噌、醤油、ビールなどに含まれている色素であり、優れた抗酸化作用⁶⁴⁻⁶⁵⁾、アレルギー抑制作用⁶⁶⁻⁶⁷⁾など生体に有用な様々な生理活性を有することが知られていることから、安全性においては全く問題ないと考えられる。

ただし、本伸展試験は3名から採取した安静時唾液を混合した後、遠心分離した上清を用いたため漿液性唾液と考えられる。しかし、口腔乾燥の強い人は唾液の粘性が高まっていると考えられるため、本試験結果がそのまま当てはまるか否かは今後の課題である。

3. メラノイジンシートによる口腔乾燥症のスクリーニング

1) メラノイジンの伸展距離と10分間の安静時唾液量の関係

現行の口腔乾燥評価法で、唾液量を直接測定する方法を除いて、得られた結果から唾液量が推定できるものはない。メラノイジンシートでは、メラノイジンの伸展距離(mm)と10分間の安静時唾液量との間に高い正の相関(Spearmanの順位相関係数、 $r=0.738$ 、 $p<0.05$)が認められたことから、メラノイジンの伸展距離が被験者の安静時唾液量を反映しており、スクリーニング結果から安静時唾液量を推定することも可能であることが示唆された。

2) メラノイジンシートにおける口腔乾燥症のスクリーニング検査としての有用性

スクリーニング検査の具備すべき条件として、感度(有病者を陽性と判定する確率)と特異度(健常者を陰性と判定する確率)がいずれも高いことが求められる。

メラノイジンの伸展距離が3mm以下の場合を口腔乾燥症(+)とすると感度は0.800、特異度は0.901、4mm以下の場合では感度は0.850、特異度は0.857、5mm以下の場合では感度は0.900、特異度は0.802とカットオフ値が3~5mmでは感度、特異度ともいずれも0.800以上であることから、スクリーニング検査として適切な値である。しかし、カットオフ値が0~2mmに設定した場合では感度が低く、カットオフ値が6mm以上の場合では感度は上がる

ものの特異度が下がることから、いずれも検出精度の点で問題があると考えられる。

Youden's index は、感度と特異度の和に基づく指標であり、(感度 + 特異度 - 1) を計算して、その最大値となるポイントをカットオフ値にするという方法であるが、感度と特異度の和が高ければスクリーニングとしての診断性能は決して高いわけではなく、必要な感度や特異度の大きさは研究の目的によって変わるとされている⁵⁹⁾。カットオフ値が3～6mmに設定した場合では、Youden's indexはいずれも0.700を超え、適正と考えられる。

陽性尤度比は、感度/偽陽性率であるため、有病者が健常者よりも何倍陽性になりやすいかを示しており、有病者は陽性になりやすいため、通常は1以上の数値となる。陽性尤度比が10以上または0.1以下で有用な検査、5以上もしくは0.2以下で中等度に有用な検査とされている⁶⁸⁾。今回の結果では、カットオフ値が0～4mmで陽性尤度比が5を超えていたが、カットオフ値が0～2mmでは感度が低いため、有用なカットオフ値は3または4mmであることが明らかとなった。

ROC曲線とは、縦軸に感度、横軸に偽陽性率(1 - 特異度)をとって、カットオフ値を変動させながらプロットしたときに得られる曲線である。そのROC曲線上における各カットオフ値における点(感度、偽陽性率)と点(0, 1)との距離は、感度と特異度の優れたROC曲線では、左上隅に近づいていくという事実から、この左上隅との距離が最小となる点を最適なカットオフ値にするというものである⁵⁹⁾。今回の結果では、カットオフ値を4mmに設定した時に点(0, 1)からの距離が0.207と最小であることから、最適なカットオフ値は4mmであることが明らかとなった(図6)。

以上のことから、今回の研究においては、メラノイジンシートにより口腔乾燥症のスクリーニング検査を行う場合の最適なカットオフ値は4mm、すなわちシート上のメラノイジン伸展距離が4mm以下である場合に「口腔乾燥症の疑いあり」とスクリーニングされ、そのような患者の場合は安静時唾液量の測定など次のステップの唾液検査を実施することが臨床上望ましいと考えられる。また、伸展距離が4mmに達するのに必要な唾液量は約110μL/2分間であり、従来吐唾法の口腔乾燥症の診断における0.1mL/分より少ない。この結果からも、カットオフ値4mmは妥当と考えられた。しかし、シート上では1mmの違いはごくわずかであるため、実際の歯科臨床の現場ではメラノイジンの伸展量が5～6mmであった被験者も「健常者」と判定することなく、「口腔乾燥症の疑いあり」とスクリーニングする方が望ましいと考えられる。

今後、更に被験者を増やしてスクリーニング検査を行い、カットオフ値の検討を行っていくことが必要である。

4. 刺激時唾液評価用メラノイジンシートによる刺激唾液量の吸収試験

1) 刺激時唾液評価用メラノイジンシートによる唾液分泌刺激効果

クエン酸による酸味刺激は、他の甘味・塩味・苦味・旨味と同様の味覚刺激であり、三叉-副交感神経の反射経路をとることで唾液分泌の効果を発揮している。

それに対して、カプサイシンによる刺激は侵害刺激であり、舌・口腔全体に存在するVR1パニロイド受容体により痛覚として受容され、瞬時に唾液分泌が促進されて痛み物質を洗い流す、生体防御の一面があると考えられている。今回、10分間の安静時唾液量から、口腔乾燥症群、正常群と分類した被験者に対し、通常メラノイジンシートとクエン酸添加メラノイジンシート、カプサイシン添加メラノイジンシートを、それぞれ2分間舌下に挿入し、メラノイジンの伸展距離を調べた。その結果、正常群においては、ほぼクエン酸添加メラノイジンシート、カプサイシン添加メラノイジンシートのいずれもメラノイジンの伸展距離が増加していた。また、口腔乾燥症群では7名中6名においてメラノイジンの伸展距離が増加していた。すなわち、クエン酸やカプサイシンの刺激による唾液分泌量の増加が認められたことから、これらの評価用シートにより刺激唾液分泌能力の評価も可能であることが示唆された。

今回の研究では、被験者が23名と少なかったため、口腔乾燥症の原因別の評価は行っていない。今後、薬剤性の口腔乾燥や様々な疾患の一症状としておこる口腔乾燥を訴える被験者の安静時唾液量、刺激時唾液量を本評価シートにてスクリーニングを行い、評価を行ってデータを蓄積していく必要があると思われる。

2) クエン酸、カプサイシン以外の唾液分泌刺激物質

口腔乾燥症群では、クエン酸添加メラノイジンシート、カプサイシン添加メラノイジンシート挿入時のいずれにおいても7名中3名においてメラノイジン伸展量に大きな伸びが見られなかった。その理由として、山口⁵⁶⁾らの報告でも指摘していたように、クエン酸、カプサイシンとも、評価シートから唾液中に一度溶出する過程を経て、味蕾や受容体に到達するが、これらの被験者では、重度の口腔乾燥症が疑われ、クエン酸やカプサイシンを評価シートから溶出させることに必要な唾液も出ていない状態であることが考えられる。加えて、加齢などにより味蕾やVR1パニロイド受容体が減少している可能性、および日常の食事においてカプサイシンを多く含む香辛料の摂取が多い被験者では、カプサイシンの刺激による唾液分泌効果が減弱している可能性も考えられる。

そうした背景をもつ被験者のことも考慮し、クエン酸やカプサイシン以外の別の唾液分泌刺激物質を塗布した刺激時唾液評価用シートの開発に関して、更に研究を進めてい

く必要があると思われた。

5. シートについて

1) シートと口腔粘膜の付着の問題

山口ら⁵⁶⁾も報告しているが、唾液分泌量が正常の被験者では問題にはならないが、口腔乾燥症の被験者では、唾液の粘稠度も上がっているため、本評価シートを舌下部に保持している間に、素材である濾紙と口腔粘膜が付着し、シートの撤去時に疼痛を生じることがある。それを防止するため、本評価シートのスポット部分を前述した耐熱ラップで被覆し、シートと口腔粘膜の付着を最小限にするように工夫した。今後、濾紙（セルロース）と同じような水分吸収特性を持ち、かつ口腔粘膜に付着しにくい素材に替えることも検討が必要であろう。

2) シートの安定性

本評価シートは、アルミホイルで被覆するなど遮光状態におくことで、常温での保管が可能である。しかし、保管場所によっては、メラノイジンのスポット部分が時間の経過により変色してしまう現象が認められた。これについては直射日光が常時当たったり、暖房器具のそばなど室温の高い場所で保管しておいた場合に起きていることから、できるだけそのような場所を避け、冷暗所に保管する必要性が示唆された。

6. 今後の展望

本評価シートは、初心者でも手軽で安全に口腔乾燥症をスクリーニングできるものとして、歯科医療機関のチェアサイドのみならず、集団歯科健診の場や、病院や介護施設のベッドサイドなどで利用されることを目的に開発したものである。

今後の研究で、被験者を更に増やして感度と特異度の検討を行うこと、ならびに安静時および刺激時の2種類の唾液評価シートを用いて、様々なタイプの口腔乾燥症の評価が可能か追求していく必要がある。

近い将来、臨床現場のみならず様々な施設において、本評価シートを用いて高齢者を中心に口腔乾燥症を早期に診断し、適切な処置を施すことで、日常生活の質を改善するだけでなく、全身および口腔の健康保持増進、健康寿命の延伸にも寄与していきたい。

結 論

1. 口腔乾燥症のスクリーニングを目的としたシートを開発するために、食品添加物を中心に11種の様々な色素をシートに吸着させ、唾液の浸透による色素の移動を評価した結果、スクリーニングに最適な色素はメラノイジンであることが明らかとなった。
2. 被験者111名の舌下部にメラノイジンを吸着させた評

価シートを2分間挿入し、唾液によるメラノイジンの伸展距離（mm）を測定したところ、安静時唾液量と色素の伸展量の間には、高い正の相関（ $r=0.738$, $p<0.05$ ）が認められた。

3. 色素の伸展距離0～10mmにおける、それぞれの感度と特異度、ROC曲線、陽性尤度比およびYouden's indexから、口腔乾燥症をスクリーニングする上での最適なメラノイジン伸展距離のカットオフ値は4 mmであることが明らかとなった。
4. メラノイジンの吸着に加えて、カプサイシンまたはクエン酸溶液を吸収させた刺激時唾液評価用シートにより、刺激時唾液の評価も可能であることが示唆された。
5. 山口らの方法に比べて発色液による刺激性が少なく、検査自体の手間が少ないことが明らかとなった。
6. 本検査法は従来の吐唾法に比べ、短時間で評価が可能であること、また唾液を排出する能力を必要としないため、寝たきり高齢者や障害者などへの応用の可能性が示唆された。

謝 辞

ご指導を賜りました北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座口腔分子生化学教室前准教授の坂本亘先生、また終始温かいご支援とご協力を頂きました、同予防歯科学教室の皆様へ感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) 向井美恵, 井上美津子, 安井利一, 眞木吉信, 深井穂博, 植田耕一郎: 健康寿命の延伸をめざした口腔機能への気づきと支援. 2-10, 医歯薬出版, 東京, 2014.
- 2) 柿木保明, 山田静子: 看護で役立つ口腔乾燥と口腔ケア. 3-8, 医歯薬出版, 東京, 2005.
- 3) 柿木保明, 西原達次: 「唾液を指標とした口腔機能向上プログラム作成」平成20年度総括・分担研究報告書厚生労働省・厚生労働科学研究費補助金・長寿科学総合研究事業, 23-31, 2009.
- 4) 篠崎昌一, 林田淳之蔭, 森山雅文, 浜中恵子, 山本晴久, 南 栄, 中村誠司: ドライマウスの診断における安静時唾液分泌量測定の有用性. 日本口腔外科学会雑誌, 53: 92, 2007.
- 5) Atkinson JC, Grisius MM, Massey W.: Salivary hypofunction and xerostomia: diagnosis and treatment. Dent Clin North Am, 49: 309-326, 2005.
- 6) 高崎英仁, 越野 寿, 平井 博, 石島 勉, 中野健治: 唾液分泌量が咀嚼効率に及ぼす影響. 日本補綴歯科学会雑誌, 47: 526-534, 2003.
- 7) 大瀧祥子, 伊藤加代子, 船山さおり, 井上 誠: 口腔乾燥から嚥下困難感をきたした症例. 日本摂食・嚥下リハビリテーション学会雑誌, 13: 528, 2009.

- 8) 柿木保明, 尾崎由衛, 榊原葉子, 木村貴之: 舌上粘膜の唾液湿潤度と嚥下困難感の関連性. 日本摂食・嚥下リハビリテーション学会雑誌, 13: 445, 2009.
- 9) 松田曙美, 小松崎悟郎, 小川 優: 口腔乾燥と口腔汚染, 嚥下障害との関係. 北海道歯科医師会誌, 64: 95-97, 2009.
- 10) 柿木保明: 高齢者における口腔乾燥と嚥下困難感の関連性に関する研究. 厚生労働省厚生科学研究費補助金長寿科学総合研究事業「高齢者の口腔乾燥改善と食機能支援に関する研究」平成17年度総括・分担研究報告書: pp34-40, 2006.
- 11) 小松祐子, 露木基勝, 井上智裕, 松原有里, 仲川洋介, 山本一彦, 桐田忠昭: 口腔乾燥症患者における口腔内環境とResazurin Disc法によるう蝕活動性についての検討. 日本口腔科学会雑誌, 59: 103, 2010.
- 12) 安田雅章, 小田貴士, 法月良江, 伊藤太一, 佐々木穂高, 矢島安朝: インプラント治療におけるリスクファクターの明確化 口腔粘膜湿潤度と歯周疾患との関連性について. 日本口腔インプラント学会誌, 22: 211, 2009.
- 13) 八重垣健: 口臭の発生因子・解消法. 日本医事新報, 4455: 83-84, 2009.
- 14) 中村 衛: ドライマウス・口臭と歯周病. Health Sciences, 25: 191, 2009.
- 15) 山近重生, 山本 健, 山田浩之, 前田伸子, 中川洋一: 口腔カンジダへ及ぼす唾液分泌機能低下の影響. 歯科薬物療法, 29: 15-20, 2010.
- 16) 戸谷収二, 小根山隆浩, 南部弘喜, 二宮一智, 岡本祐一, 又賀 泉: ドライマウス患者におけるカンジダ菌検出について. 日本皮膚科学会誌, 120: 1677, 2010.
- 17) 篠崎昌一, 林田淳之, 森山雅文, 田中昭彦, 前原隆, 浜中恵子, 山本晴久, 南 栄, 中村誠司: ドライマウス患者におけるCandida属の菌種と口腔粘膜症状の関連性についての検討. 日本口腔ケア学会雑誌, 4: 72, 2010.
- 18) 中川洋一: ドライマウスとカンジダ症. 日本口腔科学会雑誌, 58: 189, 2009.
- 19) 柿木保明, 有田正博: 義歯の安定性と口腔乾燥 上顎総義歯の維持力に関する臨床的評価. 厚生労働省・厚生科学研究費補助金長寿科学総合研究事業「高齢者の口腔乾燥症と唾液物性に関する研究」平成13年度総括・分担研究報告書: pp49-51, 2002.
- 20) 山本悦秀, 中嶋千賀, 栗山智有, 加藤広祿, 川尻秀一: 口腔乾燥感や口腔灼熱感を有する患者の唾液分泌量とカンジダ. 日本口腔診断学会雑誌, 22: 321-329, 2009.
- 21) Grisius MM: Salivary gland dysfunction: a review of systemic therapies. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Endod., 92: 156-162, 2001.
- 22) 笹野高嗣, 佐藤しづ子, 庄司憲明, 河合美佐子, 畝山寿之: 味覚障害と唾液分泌障害. Journal of Oral Biosciences, 51: 63, 2009.
- 23) 松野智宣, 山内由隆, 倉治真夏, 米山勇哉, 小俣和彦, 佐藤田鶴子: 加齢に伴う唾液分泌低下に全身および唾液腺局所の酸化-抗酸化バランスが及ぼす影響. 日本抗加齢医学会総会プログラム, 10: 164, 2010.
- 24) 岩佐康行: 口腔乾燥と加齢および口腔機能について. 日本抗加齢医学会総会プログラム, 9: 283, 2009.
- 25) 山本 健, 山近重生, 今村武浩, 木森久人, 塩原康弘, 千代情路, 森戸光彦, 山口健一, 長島弘瀬征, 山田浩之, 斎藤一郎, 中川洋一: ドライマウスにおける加齢の関与. 老年歯科医学, 22: 106-112, 2007.
- 26) 横田雅実, 伊藤 幸, 中山菜央, 中野 司, 鴨井久博, 木村真人: 向精神薬服用患者の口渇症状に関する検討. 心身医学, 49: 935, 2009.
- 27) Turner MD, Ship JA: Dry mouth and its effects on the oral health of elderly people. J Am Dent Assoc, 138: 15-20, 2007.
- 28) 川口 充, 津木康平, 大久保みぎわ, 阪井隆之, 四宮敬史, 小菅康弘: 【薬の副作用】副作用の薬理薬物療法と口腔内障害. 日本薬理学雑誌, 127-6: 447-453, 2006.
- 29) 柿木保明, 小笠原正: 要介護高齢者の口腔乾燥症のリスク薬剤の影響. 厚生労働省・厚生科学研究費補助金長寿科学総合研究事業「高齢者の口腔乾燥症と唾液物性に関する研究」平成13年度総括・分担研究報告書: pp58-60, 2002.
- 30) 五十嵐淳子: 更年期女性とドライマウス・味覚. 更年期と加齢のヘルスケア, 9: 182-187, 2010.
- 31) 山本 健, 木森久人, 山近重生, 山田浩之, 前田伸子, 斎藤一郎, 中川洋一: 更年期症状としての唾液分泌量低下の検討. 日本口腔科学学会雑誌, 58: 280, 2009.
- 32) 中川洋一, 斎藤一郎: 口渇を生じる生理的変化と全身疾患. 口腔乾燥と口腔ケア (柿木保明, 山田静子編著): 30-34, 医歯薬出版, 東京, 2005.
- 33) 阪井丘芳: 誤嚥性肺炎防止に向けたドライマウスに対するアプローチ口腔機能の回復・医事をめざした臨床と研究. 日本口腔科学会雑誌, 58: 188, 2009.
- 34) Terpenning MS, Bradley SF: Why aging leads to increased susceptibility to infection. Geriatrics, 46: 77-78, 1991.
- 35) Awamo S, Ansai T, Takata Y: Oral health and mortality risk from pneumonia in the elderly. J Dent Res, 87: 334-339, 2008.
- 36) 遠藤眞美, 久保田有香, 久保田潤平, 村松 幸, 内山公男, 岸本悦央, 佐藤裕二, 山下喜久, 柏崎晴彦, 伊藤加代子, 柿木保明: 高齢者のドライマウスのリスク因子に関する研究 - 歯科外来受診高齢者における検

- 討一、ヘルスサイエンス・ヘルスケア第13巻：60-66, 2013.
- 37) 安細敏弘, 柿木保明：今日からはじめる！口腔乾燥症の臨床。医歯薬出版：pp34-40, 2008.
- 38) 水橋 史, 小出 馨, 戸谷収二, 北川哲太郎, 森田修己：口腔乾燥患者の検査法安静時唾液, サクソントテスト, 口腔水分量, RSSTによる検査法の比較。老年歯科医学, 24：374-380, 2010.
- 39) Peter FK and Margaret EW：A quantitative test for xerostomia -The Saxon test, an oral equivalent of the Schirmer test-. Arthritis Rheum, 28：1128-1132, 1985.
- 40) Keitel W, Spieler C：The Saxon test for objective assessment of xerostomia. A contribution to the diagnosis of Sjogren's syndrome. Z Gesamte Inn Med, 44：340-341, 1989.
- 41) 船山さおり, 伊藤加代子, 濃野 要, 人見康正, 宮崎秀夫, 井上 誠, 五十嵐淳子：ワッテ法と吐唾法による唾液分泌量の比較。新潟歯学会雑誌, 38：95-101, 2008.
- 42) 船山さおり, 伊藤加代子, 人見康正, 五十嵐淳子, 井上 誠：ワッテ法を用いた唾液分泌量測定に関する検討。日本摂食・嚥下リハビリテーション学会雑誌, 12：465-466, 2008.
- 43) 柿木保明, 戸石理恵, 井上昌一, 渋谷耕司：ワッテ法による安静時唾液用流出量の定量化に関する検討。厚生労働省・厚生科学研究費補助金長寿科学総合研究事業「高齢者の口腔乾燥症と唾液物性に関する研究」. 平成13年度総括・分担報告書：pp77-78, 2002.
- 44) 倉橋昌司：チューイングガム法と咀嚼能力測定の改善と唾液分泌能力の同時測定。医学のあゆみ, 205：73-174, 2003.
- 45) 柿木保明, 中村誠司ほか：唾液検査の実際と診断のポイント。歯界展望, 103：47-52, 2004.
- 46) 斉藤美香, 小野由起子, 北村信隆, 山口雅庸, 斉藤力：高齢者の口腔粘膜水分量に関する研究（第1報）口腔水分計の測定精度の評価。老年歯科医学, 23：90-96, 2008.
- 47) 福島洋介, 古株彰一郎, 金谷あゆみ, 堀 直子, 館山高秋, 佐藤 毅, 小林明男, 荒木隆一郎, 柳沢浩之, 依田哲也：口腔水分計を用いた口腔乾燥症の診断に関する検討（第1報）至適測定圧および測定回数による測定値の決定方法について。日本口腔粘膜学会雑誌, 12：93, 2006.
- 48) Takahashi F, Takahashi M, Toya S, Koji T and Morita O：Clinical usefulness of an oral moisture checking device (Mucus[®]). Prothodont Res Pract, 5：214-218, 2006.
- 49) Takahashi F, Takahashi M, Toya S, Koji T and Morita O：Relationship between medicine and stimulated saliva and oral moisture. J Jpn Prothodont Soc, 52：537-542, 2008.
- 50) Takahashi F, Takahashi M, Toya S, Koji T and Morita O：Study on the relationship between subjective oral dryness and stimulated saliva or oral mucosal moisture, Prothodont Res Pract, 7：78-81, 2008.
- 51) 柿木保明, 渋谷耕司, 石川正夫：口腔乾燥度の評価に関する研究－新しく開発した唾液測定器具を用いた評価法について－。日本口腔衛生学会雑誌, 51：498-499, 2001.
- 52) 柿木保明：唾液湿潤度検査紙を用いた高齢障害者の口腔乾燥度評価に関する研究。日本障害者歯科学会雑誌, 25：11-17, 2004.
- 53) 井上公秀, 山本一彦, 露木基勝, 仲川卓範, 北山若紫, 桐田忠昭：唾液湿潤度検査紙「エルサリボ」の測定値についての実験的検討。日本口腔粘膜学会雑誌, 9：97-98, 2003.
- 54) Kakinoki Y, Nishihara T, Arita M et al.：Usefulness of new wetness tester for diagnosis of dry mouth in disabled patients. Gerodontology, 21：229-231, 2004.
- 55) Kanehira T, Yamaguchi T, Takehara J, Kashiwazaki H, Abe T, Morita M, Asano K, Fujii Y and Sakamoto W：A pilot study of a simple screening technique for estimation of salivary flow. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 108：389-393, 2009.
- 56) 山口友隆, 竹原順次, 阿部貴恵, 柏崎晴彦, 森田 学, 兼平 孝：唾液流量検査シートの改良。北海道歯学雑誌, 32：2-11, 2011.
- 57) Kanehira T, Hongo H, Asano K, Morita M, Maeshima E, Matsuda A, Sakamoto W：A simple test for salivary gland function measuring resting and stimulated submandibular and sublingual secretions, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 117：197-203, 2014.
- 58) Borrelli RC, Fogliano V, Monti SM, Ames JM：Characterization of melanoidins from a glucose-glycine model system. Eur Food Res Technol, 215：210-215, 2001.
- 59) Akobeng AK：Understanding diagnostic tests 3：Receiver operating characteristic curves. Acta Paediatr, 96：644-647, 2007.
- 60) Michael W.J. Dodds, Dorthea A. Johnson, Chih-Ko Yeh：Health benefits of saliva：a review. Journal of Dentistry, 33：223-233, 2005.
- 61) Ishimoto S, Tsunoda K and Fujimaki Y：Objective and non-invasive evaluation of dry mouth. Auris

- Nasus Larynx, 35 : 89-93, 2008.
- 62) Morales FJ, Somoza V and Fogliano V : Physiological relevance of dietary melanoidins. *Amino Acids*, 42 : 1097-1109, 2012.
- 63) Migo VP, del Rosario EJ, Matsumura M : Flocculation of melanoidins induced by inorganic ions. *J Ferment Bioeng*, 83 : 287-291, 1997.
- 64) Shizuuchi S and Hayase F : Antioxidative activity of the blue pigment formed in a D-xylose-glycine reaction system. *Biosci Biotechnol Biochem*, 67 : 54-59, 2003.
- 65) Hayase F, Usui T, Nishiyama K, Sasaki S, Shirahashi Y, Tsuchiya N, Numata N and Watanabe H : Chemistry and biological effects of melanoidins and glyceraldehyde-derived pyridinium as advanced glycation end products. *Ann N Y Acad Sci*, 1043 : 104-110, 2005.
- 66) Hayase F, Usui T and Watanabe H : Chemistry and some biological effects of model melanoidins and pigments as Maillard intermediates. *Mol Nutr Food Res*, 50 : 1171-1179, 2006.
- 67) Somoza V : Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products : an update. *Mol Nutr Food Res*, 49 : 663-672, 2005.
- 68) McGee S : Simplifying likelihood ratios. *J Gen Intern Med*, 17 : 647-650, 2002.

ORIGINAL

A simple screening test for evaluation of resting and stimulated saliva using pigment

Yurina Inagaki¹⁾, Junji Takehara¹⁾, Hirohisa Hongou¹⁾, Kimiya Nakamura²⁾
and Takashi Kanehira¹⁾

ABSTRACT : The early diagnosis and appropriate treatment of dry mouth in the elderly is important for health promotion and the extension of healthy life expectancy. The diagnosis of dry mouth requires an evaluation of the amount of saliva at rest.

Previously, we reported the invention of a simple screening paper, which uses the principles of paper chromatography for use in the screening of dry mouth. However, there were a number of issues with the paper that required improvement. In the present study, we focused on the transfer of pigment absorbed into the sheet due to the permeation of saliva and, to find a pigment suited to this purpose, we evaluated various pigments, particularly food additives. Additionally, the pigment that was evaluated as optimal was absorbed into the paper and used with outpatients as test subjects to evaluate the volume of resting saliva.

In the present study, we evaluated 11 pigments, which were mainly food pigments, including 3 red pigments, 2 yellow pigments, 1 blue pigments, 1 green pigments, 2 purple pigments, and 2 brown pigments. A total of 50 μ L of pigment solutions were absorbed into the tips of the chromatography paper by permeation and used for evaluation after drying. The evaluation papers for each of the absorbed pigments were allowed to absorb from dishes of 0-600 μ L of saliva for 2 minutes, after which the migration length (mm) for the pigment was measured and the optimum pigment determined. As a result, it was found that the optimum pigment was melanoidin.

Next, 111 participants, which were patients of the Department of Preventive Dentistry of Dental Clinical Division of Hokkaido University Hospital, and from whom we received cooperation were selected. We inserted melanoidin-absorbed evaluation papers into the sublingual region for 2 minutes and measured the migration length (mm) of the melanoidin due to the saliva. Additionally, the volume of resting saliva (over 10 minutes) was measured, those with a volume of 1 ml/10 minutes or less were judged as having dry mouth. A high, positive correlation was found between the volume of resting saliva and migration length of the pigment (Spearman's rank correlation coefficient : $r=0.738$, $p<0.05$). Next, to determine the optimal cutoff value, an ROC curve was constructed from the sensitivity and specificity for the migration lengths of the pigment between 0 mm-10 mm. Additionally, the positive likelihood ratio, the Youden Index, and the distance of each spot and from point (0, 1) were calculated. As a result, the optimal cutoff for screening for dry mouth was found to be 4 mm. Additionally, using simple stimulated saliva screening paper, onto which solutions of capsaicin and citric acid were absorbed at the same time as the melanoidin, it was suggested that it was also possible to evaluate stimulated saliva.

Key Words : dry mouth, food pigment, saliva secretion, cutoff value, screening

¹⁾Preventive Dentistry, Department of Oral Health Science, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University, Kita 13 Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060-8586, Japan

²⁾Division of Comprehensive Conservation Dentistry, Hokkaido University Hospital, Kita 14 Nishi 5, Kita-ku, Sapporo 060-8648, Japan