

〔原 著〕

NEVA METER[®]を用いた唾液粘稠度と喫煙状態の関連

小林 孝雄, 中島 啓介, 衣笠 裕紀, 増田 貴大, 山下 浩朗, 小鷲 悠典

北海道医療大学歯学部歯科保存学第一講座

Effect of smoking on the viscosity of whole saliva measured with the NEVA METER[®]

Takao KOBAYASHI, Keisuke NAKASHIMA, Hironori KINUGASA
Takahiro MASUDA, Hiroaki YAMASHITA, Yusuke KOWASHI

Department of Periodontology and Endodontology, School of Dentistry
Health Sciences University of Hokkaido
(Chief: Prof. Yusuke KOWASHI)

Abstract

The objective of the present study was to evaluate the effect of smoking on the viscosity of whole saliva. The viscosity of whole saliva was measured with a newly developed device, the NEVA METER. Twenty-one smokers were requested to refrain from smoking for 1 day and then to start to smoke again; subsequently, the viscosity of the whole saliva, colony forming unit, and cortisol levels in the saliva were monitored 1 and 2 days post-cessation of smoking. The viscosity of the whole saliva was significantly lower after 1 day without smoking, and then increased after smoking was resumed. Cortisol levels in the saliva did not change throughout the experiment. These findings suggest that smoking increases the viscosity of whole saliva but not through changes in cortisol levels.

Key words : NEVA METER, smoking, saliva, viscosity

要 旨

本研究では唾液粘稠度に対する喫煙の影響を明らかにすることを目的として、NEVA ME-

TERを用いた唾液の測定を行った。喫煙者21名からベースライン時、喫煙を停止させて1日後、喫煙を再開させ1日後に唾液を採取し、唾液の粘稠度、コチニン濃度、コルチゾール濃

受付：平成16年4月1日

度、細菌数を測定した。唾液粘稠度は喫煙1日後で有意に減少し、喫煙再開1日後には有意に増加した。しかしコロチゾール濃度に変化は認められなかった。これらの所見より、喫煙により唾液粘稠度は増加することが明らかになった。

緒 言

唾液は口腔環境を整えるために多種類の有機成分や無機成分を含んだ複合液である。唾液には多くの生理作用があり、口腔内を移動することによって歯面や口腔内を洗浄している。また、唾液は含有する多くの抗菌成分により、歯面に付着する細菌性プラークに対しても多大な影響を与えている。歯周病の原因が細菌性プラークであること¹⁻³⁾を考えると、唾液は歯周病の発症・進行に大きな影響を与えていると考えられる。

近年、歯周病のリスクファクターとして喫煙が注目されている⁴⁻⁷⁾。喫煙が歯周病に対して影響を与える機序については不明であるが、口腔内に対して直接的に、あるいは全身状態を介して間接的に影響を与えている可能性が考えられる。喫煙が唾液の流出量に与える影響については、これまで相反する報告がなされている。PangohnとSharon⁸⁾は喫煙者8名では非喫煙者に比べ耳下腺からの唾液分泌が増加していたと報告したが、Winsor⁹⁾およびKortingとKleinschmidt¹⁰⁾らは相反する結果を報告している。このように、喫煙が唾液分泌に与える影響については十分なコンセンサスが得られていないのが現状である。

臨床の場において、患者の口腔内を診査する際に喫煙をしている患者では唾液が粘ついているという印象を持つことが少なくない。そこで、喫煙者は非喫煙者に比べ唾液の粘稠度が高い可能性が考えられる。しかし、これまで唾液の性状、特に粘性について検討した研究は数少

ない。本研究では喫煙が唾液の粘稠度に与える影響を明らかにすることを目的とし、近年開発された唾液の牽糸度を簡易に測定できるNEVA METER (石川鉄工所 北九州市)を用いて唾液の粘稠度を測定した。また、唾液の粘稠度の変化が口腔内の細菌数に与える影響についても検討した。

材料と方法

1. 唾液粘稠度と唾液中コチニン濃度の関連

1) 被験者

北海道医療大学に在籍する職員、学生に研究の主旨を説明し、インフォームドコンセントの得られた22歳から29歳の152名を被験者とした。被験者には喫煙に関して、無記名のアンケートを実施した。アンケートでの調査項目は(1)食事をしてから経過時間、(2)喫煙をするかどうか、(3)喫煙者には一日の喫煙本数、(4)喫煙年数、(5)最後に喫煙をからの経過時間、(6)非喫煙者には一日に受動喫煙環境に何時間いるか、であった。

2) サンプルの採取

アンケート終了後、直ちに唾液サンプルを採取した。被験者を下顎安静位で3分間開口させ、口腔底に貯留した唾液を滅菌スポイトにて静かに採取し唾液サンプルとした。

3) 粘稠度の測定

採取した唾液サンプルについて、NEVA METERを使用して牽糸度を5回測定した。測定結果の最大値と最小値を除いた3回の牽糸度の平均値を粘稠度の指標とした。

4) コチニン濃度の測定

喫煙状態の指標とするために、唾液サンプルについてニコチンの代謝産物であるコチニンの濃度をサンドイッチELISA法で測定した。

2. 喫煙停止による唾液粘稠度の経時的変化

(6日間の喫煙停止による変化)

1) 被験者

北海道医療大学に在籍する職員、学生に研究の主旨を説明し、インフォームドコンセントの得られた喫煙者10名を被験者とした。

2) 喫煙停止とサンプルの採取

被験者に喫煙状態に関するアンケートを実施し、直後に唾液サンプルを採取し、この時点を書きライン時(0日)とし、直ちに喫煙を停止させ1日、2日、6日後に唾液サンプルを採取した。

3) 粘稠度の測定

採取した唾液サンプル粘稠度を前述のように測定した。

4) コルチゾール濃度の測定

ストレスの指標とするために採取した唾液サンプル中のコルチゾール濃度をコルチゾールEIAキット(Oxford biomedical research)を用いて測定した。

3. 喫煙停止による唾液粘稠度の経時的变化(1日間の喫煙停止, 喫煙再開による変化)

1) 被験者

北海道医療大学に在籍する職員、学生に研究の主旨を説明し、インフォームドコンセントの得られた喫煙者21名を被験者とした。

2) 喫煙停止・再開とサンプル採取

被験者に喫煙状態に関するアンケートを実施し、唾液サンプルを採取し、この時点を書きライン時(0日)とした。書きラインから1日間喫煙を停止させ再度、唾液サンプルを採取した(喫煙停止1日)。唾液を採取後、直ちに喫煙を再開させ1日後、つまり書きライン時から2日後に唾液サンプルを採取した(喫煙再開1日)。

3) 粘稠度の測定

採取した唾液サンプル粘稠度を前述のように測定した。

4) コチニン濃度の測定

採取した唾液サンプルのコチニン濃度を前述のようにELISA法で測定した。

5) 唾液中細菌数の測定

採取した唾液を滅菌蒸留水で1/5,000希釈し、シャーレ中の羊血液寒天培地(日水製薬)に播種した。播種後のシャーレは、好氣的(37°Cのインキュベーター内)あるいは嫌氣的(37°Cのインキュベーター内に入れたBBLガスパック(Becton Dickinson)システム)に24時間培養した。培養後、血液寒天培地上のコロニー数をカウントしCFUを算出した。

6) 唾液中コルチゾール濃度の測定

採取した唾液サンプルのコルチゾール濃度を前述のように測定した。

4. 統計解析

アンケート結果から被験者を喫煙者と非喫煙者の2群に分け、唾液中コチニン濃度と唾液粘稠度の相関を検討した。また、アンケート結果と唾液粘稠度の相関を検討した。喫煙者10名の0日、1日、2日、6日(6日間の喫煙停止による変化)と喫煙者21名の0日、喫煙停止1日後、喫煙再開1日後(1日間の喫煙停止, 喫煙再開による変化)における測定結果は、対応のあるt検定を行い解析した。

全ての解析は、Macintosh用統計解析ソフトJMP4を用いて行った。

結 果

1. 唾液粘稠度と唾液中コチニン濃度の関連

被験者152名(男性110名, 女性42名)で、喫煙者は67名(男性58名, 女性9名)、非喫煙者は85名(男性52名, 女性33名)であった。被験者の年齢は 24.10 ± 2.30 歳(平均 \pm 標準偏差)で、喫煙者は 24.54 ± 2.31 歳、非喫煙者は 23.76 ± 2.24 歳であった。唾液粘稠度は被験者で 10.80 ± 5.19 mm, 喫煙者で 11.61 ± 5.30 mm, 非喫煙者で 10.15 ± 5.26 mmであった。唾液コチニン量は被験者で 12.17 ± 21.05 ng/ml, 喫煙者で 27.48 ± 24.24 ng/ml, 非喫煙者で 0.09 ± 0.51 ng/mlであった。

表1 唾液粘稠度と唾液コチニン濃度のアンケート結果を示す.

	全被験者	喫煙者	非喫煙者
被験者 (男性:女性)	152 (110:42)	67 (58:9)	85 (52:33)
年齢	24.10 ± 2.30	24.54 ± 2.31	23.76 ± 2.24
食事をしてからの時間 (分)	255.19 ± 107.64	264.46 ± 151.98	247.74 ± 52.81
一日の喫煙本数 (本)	—	7.82 ± 10.50	—
喫煙年数 (年)	—	3.23 ± 4.28	—
最後の喫煙からの経過時間 (分)	—	89.14 ± 303.13	—
受動喫煙環境にいる時間 (分)	—	—	35.45 ± 79.27

平均 ± 標準偏差

またアンケートの結果、食事をしてからの経過時間は255.19±107.64分、喫煙者において一日の喫煙本数は7.82±10.50本、喫煙年数は3.23±4.28年、最終喫煙からの経過時間は89.14±303.13分、非喫煙者において受動喫煙環境にいる時間は35.45±79.27分であった(表1)。

唾液粘稠度と唾液コチニン量の相関は、全被験者で相関係数0.201 ($p=0.020$)であった。全被験者をアンケートの結果より喫煙者と非喫煙者に分けた。喫煙者で相関係数0.224 ($p=0.068$)、非喫煙者で0.037 ($p=0.738$)であっ

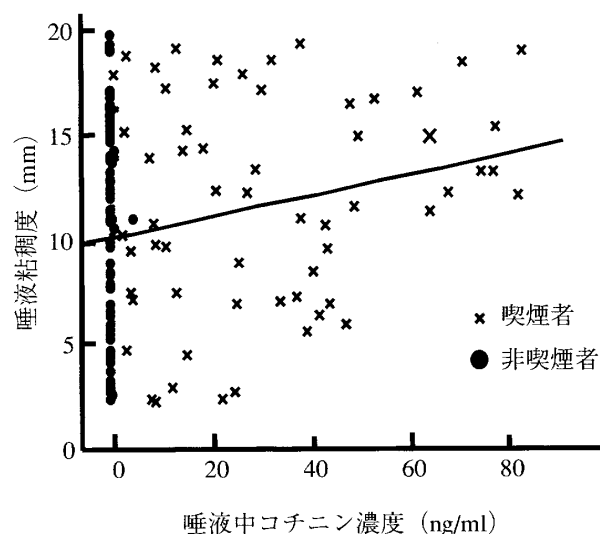


図1 全被験者152名を喫煙者と非喫煙者に分け、唾液粘稠度と唾液コチニン濃度の分布状態。直線は全被験者の相関を示す。

た(図1)。唾液粘稠度とアンケート結果(食事をしてからの経過時間、最終喫煙からの経過時間、一日の喫煙本数、喫煙年数)において相関を調べた結果、有意な相関は認められなかった。またコチニン濃度と喫煙からの経過時間の間にも有意な相関は認められなかった。

2. 喫煙停止による唾液粘稠度の経時的変化 (6日間の喫煙停止による変化)

被験者10名(男性9名、女性1名)の年齢は24.90±1.37歳であった。唾液粘稠度はベースライン時(0日)、喫煙停止1日後、2日後、6日後でそれぞれ11.97±4.64 mm, 8.29±4.01 mm, 7.67±4.00 mm, 8.03±3.04 mmで、唾液中コルチゾール濃度はそれぞれ4.55±2.86 ng/ml, 4.01±1.78 ng/ml, 6.84±7.04 ng/

表2 喫煙停止による経時的変化(6日間の喫煙停止による変化)のベースライン時におけるアンケート結果を示す。

被験者 (男性:女性)	10 (9:1)
年齢	24.90 ± 1.37
食事をしてからの時間 (分)	347.00 ± 156.64
一日の喫煙本数 (本)	17.80 ± 5.83
喫煙年数 (年)	7.15 ± 2.23
最後の喫煙からの経過時間 (分)	105.10 ± 183.19

平均 ± 標準偏差

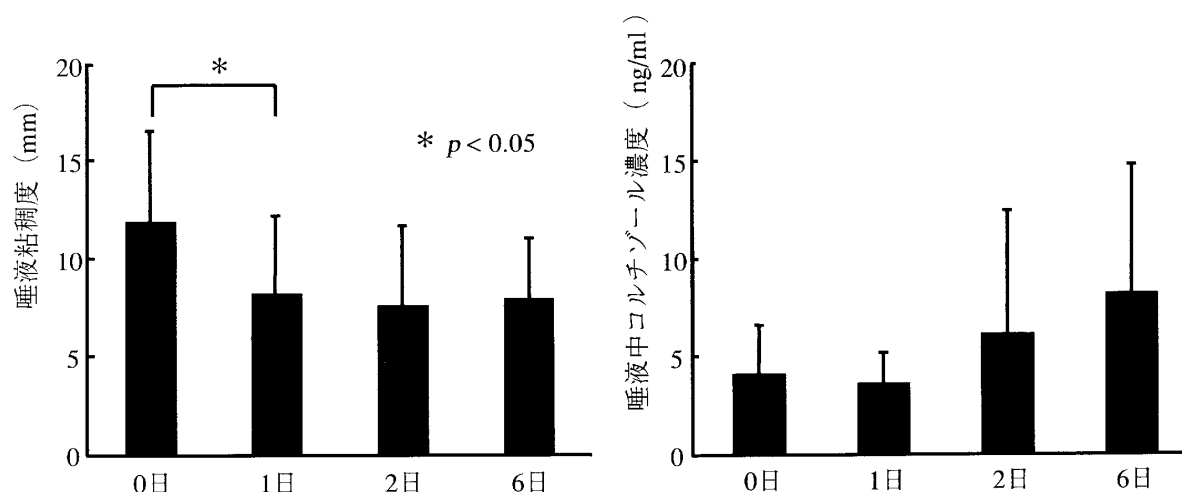


図2 喫煙停止による経時的变化（6日間の喫煙停止による変化）における唾液粘稠度（左グラフ）、唾液中コルチゾール濃度（右グラフ）の変化を示す。
唾液粘稠度において0日と1日の間に有意差を認めた。

ml, 9.12 ± 7.42 ng/mlであった。

またアンケートの結果、食事をしてからの経過時間は 347.00 ± 156.64 分、一日の喫煙本数は 17.80 ± 5.83 本、喫煙年数は 7.15 ± 2.23 年、最終喫煙からの経過時間は 105.10 ± 183.19 分であった（表2）。

0日の唾液粘稠度と喫煙停止1日後の唾液粘稠度の間には有意差が認められたが（ $p = 0.04$ ）、喫煙停止1日後と2日後あるいは6日後の粘稠度の間には有意差は認められなかった。唾液中コルチゾール濃度に関しては、いずれの測定値間にも有意差は認められなかった（図2）。アンケート結果と唾液粘稠度の間にも有意な相関は認められなかった。

3. 喫煙停止による唾液粘稠度の経時的变化 （1日間の喫煙停止、喫煙再開による変化）

6日間の喫煙停止による結果から、唾液粘稠度は喫煙停止1日後にはベースライン時に比べて有意に低下してその後あまり変化しないことが明らかになった。よって、喫煙を1日停止させ、その後に再開させて粘稠度の変化を観察した。

被験者21名（男性18名、女性3名）は 24.86 ± 2.55 歳であった。唾液粘稠度はベースライン

時（0日）、喫煙停止1日後、2日後でそれぞれ 10.88 ± 6.99 mm, 8.72 ± 5.61 mm, 11.73 ± 6.03 mmで、唾液中コチニン濃度はそれぞれ 23.26 ± 19.38 ng/ml, 23.26 ± 19.38 ng/ml, 16.28 ± 13.21 ng/mlであった。唾液中細菌数（CFU）は好気条件下ではベースライン時、喫煙停止1日後、2日後でそれぞれ 133.48 ± 119.21 , 332.57 ± 397.34 , 490.38 ± 684.16 で、嫌気条件下ではそれぞれ 216.00 ± 231.31 , 215.38 ± 180.11 , 463.05 ± 733.78 であった。唾液中コルチゾール濃度はベースライン時、喫煙停止1日後、2日後でそれぞれ 11.14 ± 6.88 ng/ml, 9.51 ± 9.48 ng/ml, 5.57 ± 6.17 ng/mlであった。アンケートの結果、食事をしてからの経過時間は 327.27 ± 194.84 分、一日の喫煙本数は 18.64 ± 6.00 本、喫煙年数は 8.23 ± 3.84 年、最

表3 喫煙停止による経時的变化（1日の喫煙停止、喫煙再開による変化）のベースライン時におけるアンケート結果を示す。

被験者（男性：女性）	21（18：3）
年齢	24.86 ± 2.55
食事をしてからの時間（分）	327.27 ± 194.84
一日の喫煙本数（本）	18.64 ± 6.00
喫煙年数（年）	8.23 ± 3.84
最後の喫煙からの経過時間（分）	47.27 ± 190.52

平均±標準偏差

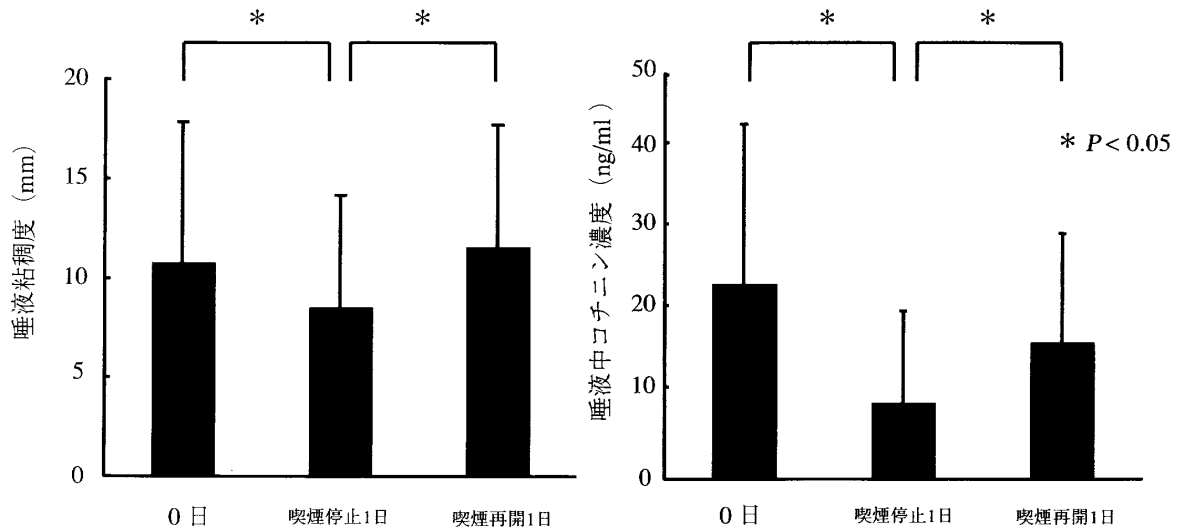


図3 喫煙停止による経時的変化（1日の喫煙停止，喫煙再開による変化）における唾液粘稠度（左グラフ），唾液
中コチニン濃度（右グラフ）の変化を示す。

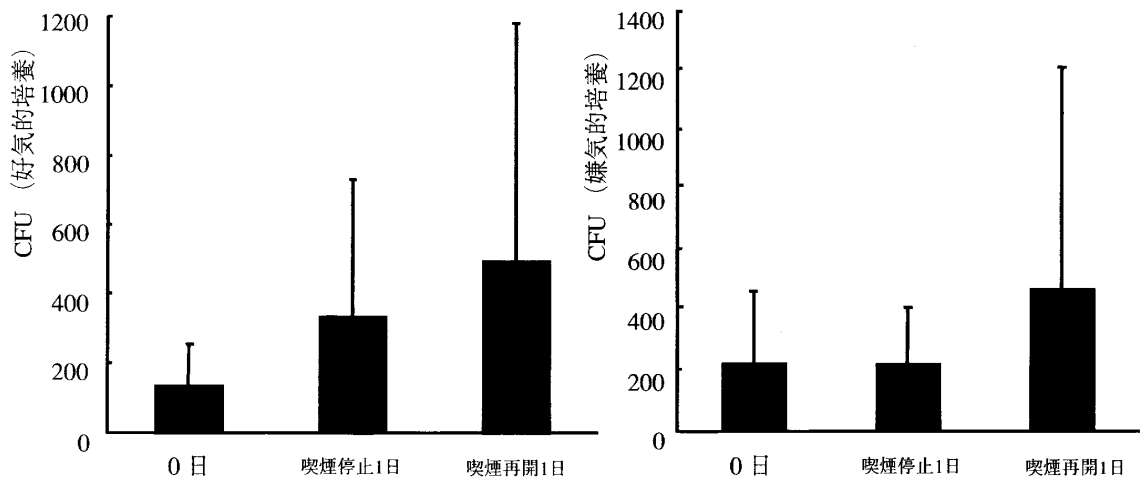


図4 喫煙停止による経時的変化（1日の喫煙停止，喫煙再開による変化）においてCFU（好氣的培養）（左グラフ），
CFU（嫌氣的培養）（右グラフ）の変化を示す。

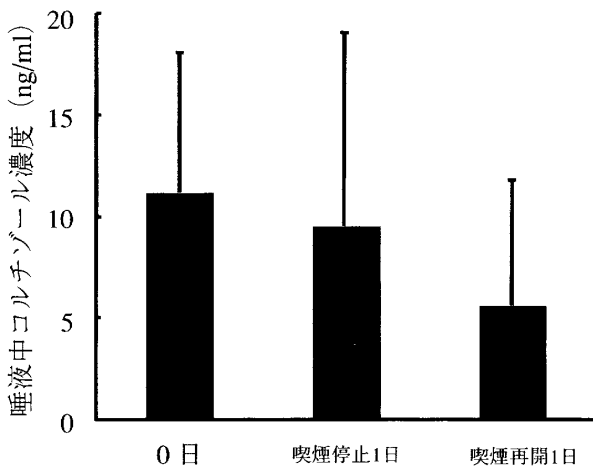


図5 喫煙停止による経時的変化（1日の喫煙停止，喫煙再開による変化）における唾液中コチニン濃度
の変化を示す。

終喫煙からの経過時間は 47.27 ± 190.52 分であった（表3）。

0日の唾液粘稠度と喫煙停止1日後の唾液粘稠度の間（ $p=0.03$ ），および1日後の唾液粘稠度と2日後の唾液粘稠度の間（ $p<0.01$ ）に有意差が認められた。同様に，唾液中コチニン濃度についても0日と1日後の間（ $p<0.01$ ），1日後と2日後の間（ $p<0.01$ ）にも有意差が認められた（図3）。好氣的および嫌氣的細菌数と唾液中コチニン濃度については，いずれの測定値間にも有意差は認められなかった（図4，5）。また，アンケート結果と

唾液粘稠度の間には有意な相関は認められなかった。

考 察

本研究では最初に唾液粘稠度と唾液コチニン濃度に関連があるかどうかを検討した。その結果、被験者の唾液粘稠度と唾液中コチニン濃度間に有意な相関が認められた。しかし、これは非常に弱い相関であった。また、被験者を喫煙者と非喫煙者に分け相関を調べたところ有意な相関は認められなかった。本測定は横断的な研究であり、非喫煙者の分布から認められるように唾液粘稠度は個人差が大きく影響していると考えられる。このことから、同一被験者で喫煙状態を変化させ唾液粘稠度の経時的変化を調べる必要性が考えられた。

そこで、喫煙停止による唾液粘稠度の変化では、まず10名の喫煙者に6日間喫煙を停止させた。その結果、喫煙停止1日後では0日に比べ唾液粘稠度が有意に減少し、その後6日後までは一定のレベルであった。これらの結果より、喫煙を停止することにより唾液粘稠度は1日後には有意に減少する可能性が示唆された。

次に、喫煙停止後に減少した唾液粘稠度が喫煙の再開により変化するかについて検討した。新たに21名の喫煙者を選択し、喫煙を1日停止させた後に喫煙を再開させ唾液粘稠度の変化を測定した。その結果、喫煙を停止することにより唾液粘稠度は有意に減少し、喫煙を再開することにより唾液粘稠度が有意に増加した。また、喫煙停止により唾液中コチニン濃度は0日と比べて有意に減少し、喫煙再開により有意に増加した。0日、1日後、2日後の各測定時における唾液粘稠度と唾液中コチニン濃度の相関を調べた結果、両者の間に有意な相関は認められなかった。これらの結果から、喫煙が唾液粘稠度および唾液中コチニン濃度に何らかの影響を与えていることが示唆されたが、血中ニコチ

ンが代謝されたコチニンが唾液中に分泌され直接、唾液の粘稠度に関与している可能性は低いと考えられた。

喫煙停止による唾液粘稠度の減少という現象に、喫煙停止により喫煙者が感じるストレスが関与している可能性を考え、ストレスの一指標と考えられている唾液中コルチゾール濃度¹¹⁻¹³⁾を測定した。その結果、コルチゾール濃度は喫煙停止により有意に変化しなかった。よって、喫煙停止により喫煙者が受けるストレスが唾液粘稠度に影響を与えている可能性は低いと考えられた。

唾液の粘稠度を決定する因子については不明であるが、我々は比較的分泌量が一定の粘液性唾液に加えて漿液性唾液がどれくらい分泌されるかによって粘稠度が決定されるのではと考えている。しかし、Parvinen¹⁴⁾はパラフィン刺激による唾液の分泌量は喫煙者と非喫煙者の間に有意差はなかったと報告している。さらにHeintze¹⁵⁾は安静時唾液量を調べ、喫煙者と非喫煙者には有意差は認められなかったと報告している。また、PanghornとSharon⁸⁾は喫煙者では非喫煙者に比べ漿液性唾液の分泌量が有意に増加していたと報告している。しかし、本研究での図1のように非喫煙者において唾液粘稠度が大きく変動していることから被験者毎の個人差は大きい。よって、これらの横断的研究では母集団となる被験者の数をかなり多くしないとデータの信頼性に疑問が生じる。一般に、唾液分泌量を調べるにあたっては多くの条件を統一して測定する必要があるため、外来患者のチェアサイドで簡易に測定できる可能性は低い。その点、本研究で使用した唾液粘稠度測定器を使用すれば短時間に再現性の高いデータが得られる。今後、喫煙と唾液粘稠度の関連を明らかにするために、唾液分泌量を測定し、唾液粘稠度との関連を探る必要がある。

唾液粘稠度の変化が口腔内の細菌数に影響を

与えるかを明らかにするために、唾液中サンプルを好氣的、嫌氣的培養を行った結果、CFUは経時的に変化せず唾液粘稠度との間にも関連は認められなかった。唾液粘稠度が口腔内細菌に与える影響については、この後、異なる手法により検討する必要があると考えられた。

結 語

本研究の結果から、喫煙により唾液粘稠度は増加することが明らかになった。しかし、喫煙がどのような機序で唾液粘稠度に影響を与えているか、喫煙による唾液粘稠度の変化が歯周病の進行に影響を与えているのか、については今後さらに検討する必要がある。

文 献

1. Slots J : Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 16 : 351–382, 1997.
2. Bragd L, Dahlen G, Wikstrom M, Slots J : The capability of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* to indicate progressive periodontitis ; a retrospective study. *J Clin Periodontol* 14 : 95–95, 1987.
3. Slots J, Listgarten MA : *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 15, 85–93, 1988.
4. Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R, Joshipura K, Kent RL : Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. *J Periodontol* 64 : 16–23, 1993.
5. Haber J : Cigarette smoking : a major risk factor for periodontitis. *Compendium* 15 : 1002–1008, 1994.
6. Haber J : Smoking is a major risk factor for periodontitis. *Curr Opin Periodontol* : 12–18, 1994.
7. Lie MA : Smoking as a risk factor for periodontitis. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 106 : 419–423, 1999.
8. Pangborn RM, Sharon IM : Visual deprivation and parotid response to cigarette smoking. *Physiol Behav* 6 : 559, 1971.
9. Winsor AL : The effect of cigarette smoking on secretion. *J Gen Psychol* 6 : 190, 1972.
10. Korting GW, Kleinschmidt W : Veranderungen der Speichelsekretion bei Hautkrankheiten. *Dermatol Wochenschr* 128 : 772, 1953.
11. Tarui H, Nakamura A : Saliva cortisol : a good indicator for acceleration stress. *Aviat Space Environ Med* 58 : 573–575, 1987.
12. Schreinicke G, Hinz A, Kratzsch J, Huber B, Voigt G : Stress-related changes of saliva cortisol in VDU operators. *Int Arch Occup Environ Health* 62 : 319–321, 1990.
13. Cross N, Pines MK, Rogers LJ : Saliva sampling to assess cortisol levels in unrestrained common marmosets and the effect of behavioral stress. *Am J Primatol* 62 : 107–114, 2004.
14. Parvinen T : Stimulated salivary flow rate, pH and lactobacillus and yeast concentrations in non-smokers and smokers. *Scand J Dent Res* 92 : 315, 1984.
15. Heintze U : Secretion rate, buffer effect and number of lactobacilli and *Streptococcus mutans* of whole saliva of cigarette smokers and non-smokers. *Scand J Dent Res* 92 : 294, 1984.