

## 口腔扁平苔癬罹患粘膜に含まれる微量元素の PIXE 分析

飯島 伸<sup>1</sup>、石橋 修<sup>2</sup>、杉山芳樹<sup>1</sup>、世良耕一郎<sup>3</sup>

<sup>1</sup>岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座口腔外科学分野  
020-0021 岩手県盛岡市中央通 1-3-27

<sup>2</sup>八戸赤十字病院歯科口腔外科  
039-1104 青森県八戸市大字田面木字明戸 2 番地

<sup>3</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

### 1 はじめに

口腔扁平苔癬、原因が不明で治療に苦慮する病変の一つである。これまでも金属アレルギー、肝炎ウイルス感染、内分泌異常、精神的ストレスなど種々の病因が唱えられてきた<sup>1)</sup>。このうち、金属アレルギーを原因とする説が有力とされている。これまで、パッチテストなどで、抗原を調べた報告は散見されるが、明確な金属との関連を、研究したものはなかった。

アレルギーの抗原として生体が原因金属を認識するためには、原因金属を生体に取り込みタンパク質と結合しなければならない。そこで、われわれは、口腔扁平苔癬粘膜の含有元素を直接 PIXE 法で調べることにより、原因金属を特定することを目的に研究を行っている。さらに、同一個体から血清、唾液を採取し直接 PIXE 法で調べることにより、粘膜に蓄積する金属の由来を特定することも同時に研究を行っている。今回は、粘膜の分析を元に数種類の金属元素について、血清、唾液との関連も報告した。

### 2 対象と方法

#### 2.1 対象

対象は当科を受診した口腔扁平苔癬患者で、説明と同意を得て生検を行った患者 72 例である。患者の内訳は、男性 25 名、女性 47 名で男性の平均年齢が 63.6 歳、女性の平均年齢が 58.3 歳であった。以降、これらを OLP 群とする。なお、本研究は岩手医科大学歯学部倫理委員会の承認 (01096) の承認を受けた。

今回分析したデータの比較の対照は、以前に当科で蓄積、報告<sup>2)</sup>した健常口腔粘膜 100 例のデータである。100 例の内訳は男性 48 名、女性 52 名で男性の平均年齢が 32.5 歳、女性の平均年齢が 30.7 歳であった。以降これらを健常者群とする。

#### 2.2 試料調製

PIXE 分析のためのターゲットの作製として、口腔粘膜は硝酸灰化法<sup>3)</sup>で液状化した。作製法を Fig.1 に示す。

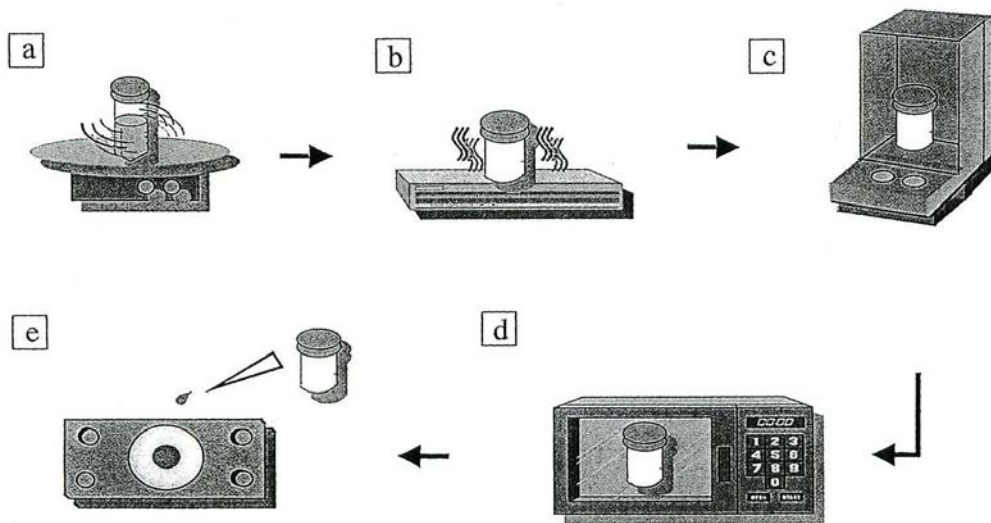


Fig.1 ターゲット作製法

- a. 採取した粘膜を生理食塩水中で 2 時間洗浄を行う。
- b. 口腔粘膜組織の細胞を破壊しないように 40 度のホットプレート状で乾燥した。
- c. 乾燥試料を 5mg に調整した。
- d. 200  $\mu$ l の硝酸、内部標準として 1000ppm インジウム標準液 5  $\mu$ l を加え電子レンジにて硝酸灰化を行った。
- e. 作製された試料を 4  $\mu$  m のポリプロピレンフィルムに 5  $\mu$ l 滴下し乾燥後、サイクロトロンターゲットとした。

唾液、血清にはそのままインジウムを内部標準として加え e. の行程後ターゲットとした。

口腔扁平苔癬罹患粘膜の一部、唾液、血清のから Fig.1 により作製したターゲットは仁科記念サイクロトロンセンターで、PIXE 法による含有元素の分析を行った。

### 3 結果

#### 3.1 汚染元素における OLP 群、健常者群での比較

##### 3.1.1 検出元素

OLP 群、健常者群の口腔粘膜から微量元素 12 種類、超微量元素 5 種類の計 17 種類の必須元素と 11 種類の汚染元素の計 28 種類が検出された。結果を表 1 に示す。本来、生体には存在しない汚染元素では Al、L、Ti、S、Pb が半数以上の OLP 群で検出された。検出率についてみると、OLP 群では健常者群よりも必須元素では Si、Mn、Fe、Ni、Co、Sn、As が有意に低く、汚染元素では Al、Ga、Sb、Hg、Pb が有意に低かった。また、OLP 群が健常者群より有意に高かったのは Au、Y であった。

表1 OLP群・健常者群の口腔粘膜含有元素

## OLP群と健常者群の検出数と検出率(微量元素)

検出元素	OLP群(n=72)	%	健常者群(n=100)	%
Si	46	66.7	94	94 ***
Cu	72	100	100	100
V	2	2.8	12	12
Cr	66	91.7	84	84
Mn	42	58.3	93	93 ***
Fe	68	94.4	97	97 *
Co	25	34.7	56	56 **
Ni	51	70.8	83	83
Zn	72	100	100	100
Se	59	81.2	80	80
Mo	19	26.4	23	23
Sn	4	5.6	21	21 **

\* P&lt;0.05 \*\* P&lt;0.01 \*\*\* P&lt;0.001

## OLP群と健常者群の検出数と検出率(超微量元素)

検出元素	OLP群(n=72)	%	健常者群(n=100)	%
Ge	1	1.4	3	3
As	5	6.9	22	22 *
Br	72	100	96	96
Rb	64	88.9	96	96
Pd	4	5.6	9	9

\* P&lt;0.05 \*\* P&lt;0.01 \*\*\* P&lt;0.001

## OLP群と健常者群の検出数と検出率(汚染元素)

検出元素	OLP群(n=72)	%	健常者群(n=100)	%
Al	49	68.1	100	100 ***
Ti	62	86.1	86	86
Ga	5	6.9	21	21 *
Sr	32	44.4	46	46
Zr	9	12.5	13	13
Nb	5	6.9	13	13
Ag	20	27.8	17	17
Sb	1	1.4	9	9 *
Au	31	43.1	16	16 ***
Hg	8	11.1	28	28 **
Pb	64	88.9	100	100 ***
Y	13	18.1	5	5 *

\* P&lt;0.05 \*\* P&lt;0.01 \*\*\* P&lt;0.001

## 3.1.2 口腔粘膜含有元素量

OLP群、健常者群の口腔粘膜含有元素量を表2に示す。OLP群が健常者群より有意に低かったのは、Cu、Ni、Rb、OLP群が健常者群より有意に高かったのはAl、Ti、Ga、Yであった。

表2 OLP群・健常者群の口腔粘膜元素含有量

OLP群と健常者群の検出元素の含有量の比較(微量元素)					
検出元素	OLP群(n=72)	n	健常者群(n=100)	n	
Si	150.74 ± 100.43	46	121.37 ± 131.93	94	
Cu	12.51 ± 14.7	72	18.93 ± 26.34	100	*
V	2.8 ± 0.39	2	2.53 ± 1.09	12	
Cr	6.19 ± 6.62	66	4.65 ± 6.85	84	
Mn	2.68 ± 2.5	42	1.93 ± 1.37	93	
Fe	114.45 ± 71.15	68	108.47 ± 78.24	97	
Co	1.91 ± 1.82	25	1.83 ± 2.45	56	
Ni	2.56 ± 2.87	51	7.86 ± 21.23	83	*
Zn	68.92 ± 28.83	72	66.19 ± 30.41	100	
Se	0.97 ± 0.4	59	1.16 ± 1.36	80	
Mo	3.78 ± 2.5	19	3.29 ± 5.9	23	
Sn	12.57 ± 6.94	4	24.51 ± 30.11	21	
					( $\mu\text{g/g}$ )
* P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001					
OLP群と健常者群の検出元素の含有量の比較(超微量元素)					
検出元素	OLP群(n=72)	n	健常者群(n=100)	n	
Ge	2.89	1	0.22 ± 0.07	3	
As	1.03 ± 0.3	5	0.65 ± 0.57	22	
Br	3.54 ± 1.49	72	3.2 ± 1.48	96	
Rb	3.77 ± 2.13	64	5.01 ± 3.49	96	**
Pd	12.03 ± 14.01	4	5.44 ± 7.59	9	
					( $\mu\text{g/g}$ )
* P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001					
OLP群と健常者群の検出元素の含有量の比較(汚染元素)					
検出元素	OLP群(n=72)	n	健常者群(n=100)	n	
Al	152.1 ± 136.15	49	71.52 ± 64.19	100	***
Ti	9.85 ± 6.59	62	6.11 ± 6.87	86	**
Ga	1.13 ± 0.34	5	0.68 ± 0.3	21	**
Sr	1.18 ± 0.7	32	0.91 ± 0.46	46	
Zr	4.63 ± 6.99	9	0.76 ± 0.37	13	
Nb	1.22 ± 0.58	5	0.9 ± 0.61	13	
Ag	13.17 ± 13.82	20	7.82 ± 7.32	17	
Sb	13.08	1	11.46 ± 7.77	9	
Au	4.29 ± 2.07	31	3.79 ± 4.19	16	
Hg	2.19 ± 1.7	8	1.83 ± 1.39	28	
Pb	5.44 ± 4.6	64	5.58 ± 7.1	100	
Y	1.07 ± 0.52	13	0.57 ± 0.17	5	**
					( $\mu\text{g/g}$ )
* P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001					

### 3.2 口腔粘膜、唾液、血清の比較

同一個体から血清、粘膜、唾液を採取しえた OLP 群 25 名と健常者群 7 名を対象とした。結果 3.1 をふまえ含有量に有意差があり、検出率が 50%以上である Al、Ni、Ti、Cu、Rb についての含有元素量の比較検討を行った。すべての元素で粘膜が高い値を示した。血清と唾液の比較では汚染元素である Al、Ti と必須元素である Rb で唾液に多く含有されている傾向を示した。

## 4 考 察

粘膜における汚染元素の検出率では Si、Co、Mn、Al、Ga、Sb、Hg、Pb が OLP 群よりも健常群の方が有意に高い値を示した。OLP 群が健常者群より有意に高い値を示したのは Au、Y であった。

粘膜における汚染元素の含有量で OLP 群が健常者群より有意に高い値を示したのは Al、Ti、Ga、Y であった。Y は遷移元素であり、金属アレルギーに関連することが多いとされる。今後注目すべき元素と考えている。

汚染元素含有量の血清、粘膜、唾液の比較です。同一個体の血清、粘膜、唾液の元素含有量の比較では、粘膜が最も高い値を示し、粘膜に集積されている可能性が考えられた。血清と唾液での比較では、汚染元素である Al、Ti では唾液に多く含有されている傾向を示した。OLP の発症に何らかの影響を与えている可能性が示唆された。

今後は、Al、Ti など特徴のある元素について、粘膜における分布状態を調べて、分析をすすめる予定である。

## 参考文献

- 1) 石橋 修：口腔粘膜疾患と歯科用重金属, RADIOISOTOPES, 50, 12-21, 2001
- 2) 石橋 修他：口腔粘膜の微量元素分析, 岩医大歯誌, 28, 76-84, 2003
- 3) Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Saitou, S. and Sera, K. : Present status of NMCC and sample preparation method for bio-samples, *ibid.*, 3, 319-328, 1993

## PIXE analysis of microelement included in oral lichen planus affection mucosa

S. Iijima<sup>1</sup>, S. Ishibashi<sup>2</sup>, Y. Sugiyama<sup>1</sup> and K. Sera<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Division of Oral and Maxillofacial Surgery,  
Department of Reconstructive Oral and Maxillofacial Surgery,  
Iwate Medical University  
1-3-27 Chuodori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

<sup>2</sup>Oral Surgery, Hachinohe Red Cross Hospital  
2, Akedo, Tamonoki, Hachinohe, Aomori 039-1104, Japan

<sup>3</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

### Abstract

Oral lichen planus is difficult to treat in some cases, because its cause has not been clarified. Previously proposed causes of this disease include metal allergy, hepatitis virus infection, endocrine abnormality, and psychological stress. Among these proposed causes, metal allergy is considered the most likely. Therefore, with the objective of identifying causative metals, we investigated elements present in the mucous membranes of 72 patients with oral lichen planus (OLP group) using direct PIXE analysis. Data for the oral mucosa of 100 healthy individuals accumulated at our department (healthy group) were used as controls. Mucous membranes affected by oral lichen planus were liquefied using the nitrate ashing method, and the elements present therein were analyzed using PIXE analysis at Iwate Medical University Cyclotron Center. Detection rates for the following elements were significantly higher in the healthy group than in the OLP group: Si, Co, Mn, Sn, As, Al, Ga, Sb, Hg, and Pb. On the other hand, detection rates for Au and Y were significantly higher in the OLP group than in the healthy group. As for levels of each element, levels of Cu, Ni, and Rb were significantly higher in the healthy group than in the OLP group, while levels of Al, Ti, Ga, and Y were significantly higher in the OLP group than the healthy group. In addition, levels of all pollutant elements except Pb tended to be higher in the OLP group, suggesting that these elements may have an effect. Comparison of element levels in the serum, mucous membranes, and saliva within the same individuals indicated that levels were highest in the mucous membranes, suggesting that elements accumulate in the mucous membranes via the serum and saliva through some unknown mechanism. Comparison of levels of pollutant elements in serum and saliva showed that Al and Ti were present at high levels in saliva, suggesting the possibility of an effect on OLP onset.