

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¹、石橋 修²、杉山芳樹¹、世良耕一郎³

¹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
020-8505 岩手県盛岡市中央通 1-3-27

²八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

³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¹。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、原因金属を生体が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。今回はこれまでに分析を行った口腔扁平苔癬粘膜の含有元素について報告した。また、臨床像と病理組織所見についても検討を始めたので概要を報告した。

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) の承認を受け行った。

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²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。

臨床像と病理組織所見についての検討は OLP 群の 72 例中、病理標本などが明確に揃えられている 46 例を対象とした。患者の内訳は、男性 18 名、女性 28 名で男性の平均年齢が 65.6 歳、女性の平均年齢が 62.7 歳であった。

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³で液状化した。作製法を Fig.1 に示す。

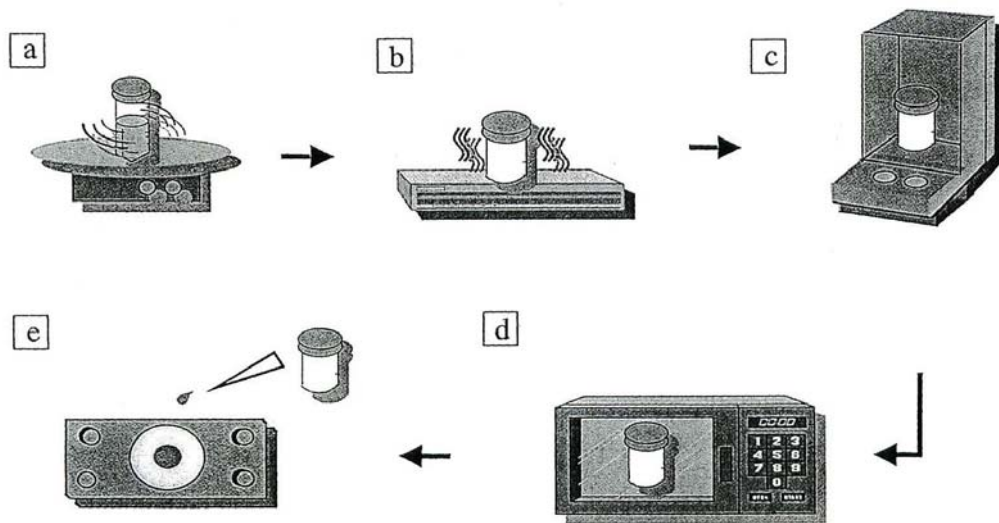


Fig1. ターゲット作製法

- 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5 mgに調整した。
- d. 200 µlの硝酸、内部標準として1000 ppm インジウム標準液5 µl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 µmのポリプロピレンフィルムに5 µl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 Fig1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。

臨床像と病理組織所見の関連を櫻井らの報告⁴を用いて分析を行った。臨床像は臨床視診型として Eisen の分類⁵を用いた。分類は、1.網状・過角化（白斑）型：隆起した細い網状の白色病変および網状病変時伴う白斑、2.萎縮・紅斑型：網状病変に伴う赤い粘膜の萎縮あるいは紅斑性の病変、3.びらん・潰瘍型（水疱型を含む）：網状病変に伴う粘膜のびらんあるいは潰瘍性病変とした。分類1が軽症で3が重症である。分類1を1点、分類2を2点、分類3を3点と点数化した。

病理組織所見の分類は櫻井らの報告⁴に基づき、1.上皮下の帯状リンパ球性細胞浸潤、2.基底細胞の液化変性あるいは上皮層の結合組織からの剥離、3.粘膜上皮表層の過正角化または錯角化、4.上皮脚の平坦化あるいは鋸歯状化、5.基底膜の破壊とした。各項目を1点とし合計点数を求めた。合計点数が高いほど重症となる。

以上のように各症例の臨床像と病理組織所見を点数化した。

3 結果

3.1 検出された元素における 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、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<0.05 ** P<0.01 *** P<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<0.05 ** P<0.01 *** P<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<0.05 ** P<0.01 *** P<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。含有量について健常者群がOLP群より有意に多かったのは、すべて必須元素であるCu、Ni、Rbであった。OLP群が健常者群より有意に多かったのは、すべて汚染元素であるAl、Ti、Ga、Sr、Ag、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	

* P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001 (μg/g)

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	

* P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001 (μg/g)

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	**

* P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001 (μg/g)

3.2 臨床像と病理組織所見についての検討

OLP 群の 46 例の臨床像と病理組織所見について検討した結果を表 3 に示す。Eisen 分類の重症化とともに病理組織所見の点数も増加し重症化が考えられた。

表3 臨床像と病理組織所見

Eisen分類	患者数	平均年齢	病理point
1	21	61.3	2.86
2	11	67.2	3.27
3	14	61.6	3.93

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、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。

一般的に汚染元素は検出率は少ないものの含有量が多い傾向を示した。汚染元素は蓄積され発症に関与するが、ある程度の含有量になると脱落（排出）する可能性を考えた。そこで臨床像と病理組織所見を検討した。臨床像が重症化するほど病理組織所見的にも重症化していた。これらを踏まえパッチテストなどを併用し、原因となる金属の検討を行っていく予定である。

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
- 4) 櫻井 仁亨他: 口腔扁平苔癬における臨床像と病理診断の相関, 日口粘膜誌, 17, 39-43, 2011
- 5) Eisen D: The clinical features, malignant potential, and systemic associations of oral lichen planus: a study of 723 patients. *J Am Acad Dermatol* 46: 207-214, 2002

PIXE analysis of microelement included in oral lichen planus affection mucosa

S. Iijima¹, S. Ishibashi², Y. Sugiyama¹ and K. Sera³

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

²Oral Surgery, Hachinohe Red Cross Hospital
2 Akedo, Tamonoki, Hachinohe, Aomori 039-1104, Japan

³Cyclotron 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.