

## 研 究

化学療法中の唾液及び末梢血中白血球量の変動と  
口腔粘膜炎発症の関連 – 臨床的縦断研究 –杉山 由紀子<sup>1)</sup>, 小宅 達郎<sup>2)</sup>, 帖佐 直幸<sup>3)</sup>, 佐藤 華子<sup>1)</sup>, 阿部 晶子<sup>1)</sup>, 岸 光男<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 岩手医科大学歯学部口腔医学講座予防歯科学分野

(主任: 岸 光男 教授)

<sup>2)</sup> 岩手医科大学医学部内科学講座血液腫瘍内科分野

(主任: 伊藤 薫樹 教授)

<sup>3)</sup> 岩手医科大学学生化学講座細胞情報科学分野

(主任: 石崎 明 教授)

(受付: 2021年12月6日)

(受理: 2022年1月5日)

## 和 文 抄 録

**背景:** 口腔粘膜炎は化学療法を受ける患者に最も多く見られる有害事象である。口腔粘膜の健康維持に唾液白血球が寄与していることは広く知られているが、化学療法中の患者に発生する口腔粘膜炎との関連は不明である。

**目的:** 予備的研究として、市販の検査装置 (SillHa, アークレイ, 日本) を用いて健康なボランティアを対象に、唾液中白血球測定の信頼性と適用性を検討した。引き続き行ったその検査装置を用いた臨床観察研究において、化学療法患者における口腔粘膜炎の発生と唾液および末梢血の白血球レベルの変化との関連を明らかにすることを主な目的とした。

**方法:** 市販の検査機器として、SillHa (アークレイ, 日本) を使用した。健康な成人ボランティア 50 名から唾液サンプルを採取し、サンプル中の白血球量を SillHa とフローサイトメトリーによる CD45 陽性細胞数の両方で計測した。その後、化学療法中の口腔粘膜炎の発生を主要評価項目とした臨床的

---

Association of oral mucositis occurrence with changes of leucocyte levels in saliva and peripheral blood during chemotherapy: a clinical longitudinal study

Yukiko SUGIYAMA, Tatsuo OYAKE, Naoyuki CHOSA, Hanako SATO, Akiko ABE, and Mitsuo KISHI

<sup>1)</sup> Division of Preventive Dentistry, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Iwate Medical University,

(Chief: Prof. Mitsuo KISHI)

<sup>2)</sup> Division of Hematology and Oncology, Department of Internal Medicine, Iwate Medical University,

(Chief: Prof. Shigeki ITO)

<sup>3)</sup> Division of Cellular Biosignal Sciences, Department of Biochemistry, Iwate Medical University,

(Chief: Prof. Akira ISHISAKI)

<sup>1)</sup> 1-3-27 Chuo-dori, Morioka, 020-8505, Japan<sup>2)</sup> 2-1-1 Idai-Dori, Yahaba, 028-3695, Japan<sup>3)</sup> 1-1-1 Idai-Dori, Yahaba, 028-3694, Japan

1) 岩手県盛岡市中央通 1-3-27 (〒 020-8505)

2) 岩手県紫波郡矢巾町医大通 2-1-1 (〒 028-3695)

3) 岩手県紫波郡矢巾町医大通 1-1-1 (〒 028-3694)

*Dent. J. Iwate Med. Univ.* 47 : 1-18, 2022

縦断研究を行った。岩手医科大学附属病院で化学療法を受けた患者 31 名が、匿名での調査結果の使用に同意の上、研究に参加した。参加者の属性、生活習慣、原疾患の治療歴などの情報は診療録から入手した。化学療法開始前（ベースライン）に口腔内検査を実施した。唾液および末梢血中の白血球量は約 2 日ごとに測定した。本研究は、観察研究の報告に関するヘルシキ宣言と STROBE 声明に従った。**結果：**SillHa とフローサイトメトリーによる測定値の相関係数は高い値を示した ( $r=0.818$ ,  $p<0.001$ )。化学療法を受けた患者において、観察期間中、41.9% の者に口腔粘膜炎が発生した。本研究で解析したデータのうち、口腔粘膜炎の発生と最も関連性が高かったのは、唾液中の白血球が最も少なくなった日から、ベースラインの 50% 以上に回復するまでの日数であった。また、ROC 分析では、曲線下面積は 0.771 であり、口腔粘膜炎発症の有無の識別能力が高いことが示された。**結論：**本結果から、市販の検査機器を用いて測定した唾液中白血球量の変化が、化学療法を受けている患者の口腔粘膜炎発症の予測に有用であることが示された。

## 【緒 言】

口腔粘膜炎は化学療法患者の周術期における口腔内の代表的な有害事象である<sup>1)</sup>。口腔粘膜炎の発症は、一般的な化学療法を受けている患者の 20% から 40%、造血幹細胞移植時の高用量化学療法を受けている患者の 80%、頸部放射線療法を受けている患者ではほぼ 100% とされる<sup>2)・3)</sup>。口腔粘膜炎は、食事摂取や会話の障害となり患者の QOL の低下やそれによる治療へのモチベーション低下につながる。さらに、重篤な場合は治療の遅れ、予後の悪化、患者管理コストの増加を招くといわれている<sup>4)・5)</sup>。そのため近年、我が国においても口腔粘膜炎の予防管理を含めた周術期の口腔管理が多くの医療機関で行われている<sup>6)~9)</sup>。

口腔粘膜炎の予防管理のためには発症に関するリスク因子の把握が重要である。これまで、口腔粘膜炎が高頻度に発症する薬剤として、メルファラン、ブスルファン、シクロホスファミドなどのアルキル化剤、シタラビン、高用量 5-フルオロウラシルなどが報告されている<sup>10)~15)</sup>。また、宿主側の要因として、女性<sup>16)・17)</sup>、低体重<sup>18)・19)</sup>、高齢<sup>20)・21)</sup>などが口腔粘膜炎発症のリスク因子とされている。歯周炎をはじめとする歯性感染症の化学療法中の口腔粘膜炎発症に対する関与は明確ではないが、口腔衛生状態を改善することが口腔粘膜炎発症予防につながるという報告があり、化学療法の周術期に口腔衛生管理を行うことが推奨されている<sup>22)~24)</sup>。

一方、化学療法が誘発する口腔粘膜炎は、抗がん剤により細胞内がイオン化して生じるフリーラジカルによる直接的細胞破壊（一次性）と、骨髄抑制のために白血球が減少することで口腔内が易感染状態となり、局所感染によって生じる粘膜炎（二次性）とに大別される<sup>25)~27)</sup>。それ故、口腔衛生状態を良好に保つことは主として二次性の口腔粘膜炎の予防に寄与しているものと考えられる。しかし、これまで口腔粘膜炎のリスク要因を一次性と二次性に区別して検討した例は見られない。また、口腔粘膜炎が骨髄抑制によって生じるならば、唾液中の白血球量の減少がその発症に関与していることもまた予測される。健全状態の唾液中からは約  $10^6$  個の白血球が分離され、その 80% 以上が多核好中球である<sup>28)</sup>。好中球は 1 日に  $10^{11}$  個以上が骨髄で産生され、血液中に放出されて組織内に移行する<sup>29)</sup>。唾液中の白血球は末梢血中の白血球が歯周組織の間隙から歯肉溝浸出液などによって口腔内に侵入することで全唾液に混入すると考えられている<sup>30)・31)</sup>。好中球をはじめとする白血球は口腔の自然免疫において重要な役割を果たしており、口腔内細菌叢と白血球の相互作用によって口腔内の健康状態を維持している<sup>32)・33)</sup>。これまで健常者においては末梢血多核白血球の量と口腔内多核白血球の量に相関がないことが報告されており、これは健常者では歯周組織局所の活発な微小環境により、全身の免疫系に影響されることなく好中球が口腔内に引き寄せられるためと説明されている<sup>28)・33)</sup>。一方、好中

球減少症や骨髄移植患者では唾液中多核白血球数が末梢血多核白血球と関連したことが報告されており、末梢血の白血球が極端に減少した場合には唾液中の白血球にも影響が及ぼされることが示唆されている<sup>34), 35)</sup>。しかし、唾液中と末梢血中の白血球数を比較した例は少なく、さらに口腔粘膜炎症の発症への関与を検討した例はない。

そこで本研究では、化学療法を行う患者に対し、化学療法中の唾液中と末梢血中の白血球量の変動を観察し、口腔粘膜炎症との関連を検討することを目的とした。さらに、この目的のためには化学療法中に頻回にわたり患者から口腔サンプルを採取する必要があり、研究参加者の負担軽減と測定結果判定の迅速性のため、化学療法患者を対象とした研究に先立ち、簡便に唾液中白血球量を測定する方法として、市販の簡易唾液検査装置の適用を検討することを予備研究による副次的検討対象とした。

## 【方 法】

### 1. 予備研究：健常成人における唾液白血球に関する簡易唾液検査装置による測定値と唾液白血球数との関係

#### 1) 研究参加者

岩手医科大学歯学部職員に研究に関する説明をし、唾液試料提供を依頼した。この際、高血圧、脂質異常症以外で継続治療している者は除外した。同意を得られた者の性別と年齢のみを記録し、それら情報をリンクさせて採取試料を保存した。依頼対象は我々研究グループを含む50名で、試料提供を拒否した者はいなかった。研究参加者は男性23名、女性27名、平均年齢 $38.5 \pm 10.7$ 歳であった。

#### 2) 唾液試料の採取

研究参加者に、精製水3 mLで10秒間、口腔全体に精製水が行き渡るように含嗽させた後に滅菌チューブに吐出させて唾液試料とした。その一部をただちに簡易唾液検査装置による白血球量測定に供した後、氷温保存し、1時間以内にフローサイトメトリーによる正確な白血球

数測定に供した。

#### 3) 簡易唾液検査装置による唾液白血球量の測定

簡易唾液検査装置にはSillHa（アークレイ株式会社、京都）を用いた。同装置による白血球量（SillHa値）の測定はプロダクトマニュアルの測定フローに従い、以下のように行った。採取した唾液試料を専用スポイドで試験紙上に滴下し、測定器のホルダーにセットした。5分後自動的に測定された白血球量を記録した。SillHaの測定原理は白血球エステラーゼ活性を測定することにより試料中の白血球を定量するものである。SillHa値は、市販の尿検査試験紙と類似した組成の試験紙を使用し、白血球エステラーゼによる試験紙の色調変化を反射測光法で測定した反射率を0-100の相対値で表したものである。

#### 4) フローサイトメトリーによる唾液白血球数の定量

唾液試料中の白血球数についてはCD45陽性細胞数を以下の方法で計測した。

唾液試料1000  $\mu$ Lを5000 rpmで3分間遠心分離し、その沈渣を200  $\mu$ Lの0.5% FBS (fetal bovine serum), 2 mM EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) を含むPBS (Phosphate-buffered saline) に懸濁した。懸濁液に2  $\mu$ LのPE (phycoerythrin) ラベルされた抗ヒトCD45抗体 (PE-conjugated anti-human CD45 antibody, CloneHI30, BioLegend, San Diego, USA) を加えて4℃の暗所で1時間静置して反応させた。反応後の試料中CD45陽性細胞数をサイトフローメータCytoFLEX (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) で計測し、唾液白血球数とした。

#### 5) 統計解析

SillHa値、唾液白血球数、年齢は連続変数とした。SillHa値と年齢はKolmogorov-Smirnov検定で正規性を確認した。唾液白血球数は常用対数に変換した後、同様に正規性を確認し、これらの変数を数量尺度として扱った。また、性別は名義尺度とし、男女間の白血球量の比較に用いた。

## 2. 化学療法患者の末梢血白血球数, 唾液白血球量と口腔粘膜炎症の関連

### 1) 研究デザイン

口腔粘膜炎の発症をアウトカムとした臨床的縦断研究を行った。

### 2) 研究対象者

2020年3月から2021年3月までの間に, 岩手医科大学附属病院血液腫瘍内科から同病院歯科に化学療法前の口腔管理依頼のあったすべての入院患者(32名)を対象とした。除外基準は同意能力に欠ける者, ベースラインの口腔内検査で口腔粘膜に炎症性疾患のある者及び無菌顎者とした。研究に関する十分な説明を行い, 同意を得た者を対象とした。対象者すべてから同意が得られ, そのうち除外基準に該当した者は無菌顎者1名だった。観察開始後に同意を撤回した者はいなかった。これらの結果, 31名を本研究の対象者とした(図1)。

### 3) 測定対象及びデータ採取方法

本研究の主要観察項目は, 化学療法中の口腔粘膜炎発症に関連すると想定される以下の要因である。

1. 属性及び生活習慣: 化学療法開始前の対象者の年齢, 性別, 身長, 体重, 最近及び過去の喫煙習慣ならびに最近の飲酒習慣を診療録から採取した。
2. 原疾患治療内容: 原疾患名, 治療方法, レジ

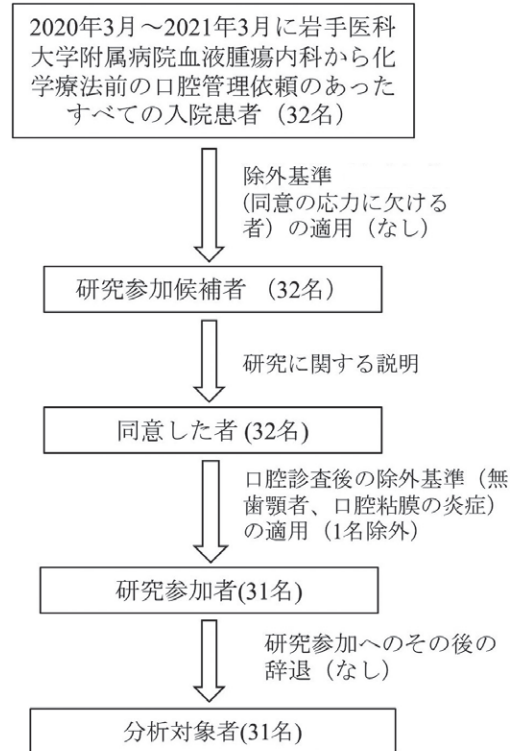


図1. 対象者の選定フロー

メン(抗がん剤の種類や投与日数などを定めた化学療法の標準的治療計画), 及び治療期間を診療録から採取した。対象者の原疾患名と治療方法を表1に示す。

表1. 対象者の原疾患及び治療方法

原疾患 \ 治療方法	通常化学療法	自家造血幹細胞移植	同種造血幹細胞移植	計
急性骨髄性白血病	3	0	5	8
急性前骨髄球性白血病	2	0	1	3
急性リンパ性白血病	3	0	1	4
慢性骨髄性白血病	0	0	1	1
非ホジキンリンパ腫	8	1	2	11
多発性骨髄腫	1	1	0	2
成人T細胞白血病	1	0	0	1
再生不良性貧血	0	0	1	1
計	18	2	11	31

3. 口腔内状況：化学療法開始前に口腔内診査を行い、現在歯数、未処置歯数、4 mm以上の歯周ポケットを有する歯数（ポケット歯数）、プロービング時に歯肉からの出血を呈した歯数（BOP 歯数）、歯垢付着状況を測定した。未処置歯はWHOの基準<sup>36)</sup>に従い、明らかなる窩を有する歯または軟化歯質が触知される歯とした。歯垢付着状況はO'LearyのPlaque Control Record (PCR)<sup>37)</sup>により評価した。さらに、口腔粘膜の状態、唾液湿潤度、唾液白血球量及び口腔の疼痛程度を以下の方法で評価した。
  - ・ 口腔粘膜の状態：National Cancer Institute (NCI)のCommon Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 3.0<sup>38)</sup>を評価に用いた（表2）。本研究では、観察期間中にCTCAEグレード2以上を呈した場合に口腔粘膜炎症発症ありとした。

表 2. CTCAE version 3.0の口腔粘膜炎症評価基準

グレード 1	粘膜の紅斑
グレード 2	斑状潰瘍または偽膜
グレード 3	融合した潰瘍または偽膜：わずかな外傷で出血
グレード 4	組織の壊死；顕著な自然出血
グレード 5	死亡

- ・ 口腔湿潤度：口腔内水分計（ムークス<sup>®</sup>、株式会社ライフ、埼玉）を用いて、既報<sup>39)</sup>に準じ、正中溝に沿って舌尖から1cm後方の位置で3回測定した。測定は1人あたり3回行い、その平均値を口腔湿潤度スコアとした。
- ・ 口腔の疼痛程度：Numerical Rating Scale (NRS)を用いた<sup>40)</sup>。NRSは、まったく痛みがない状態を「0」、想像できる最大の痛みを「10」とした11段階で対象者自身が痛みの認識を評価する尺度である。口腔粘膜評価前に、対象者本人から口頭で評価値を伝えてもらって記録した。化学療法開始後は概ね2日に1

度、口腔湿潤度、口腔粘膜の状態、口腔の疼痛程度を評価した。すべての口腔内状態の評価は1名の歯科医師（Y. S）が行った。

4. 末梢血及び唾液白血球量の変動：口腔内状況と同様に、化学療法開始前のベースライン時と、口腔内評価時に予備的研究と同じ方法でSillHa値を測定して唾液白血球量とした。また、同日の末梢血白血球数を診療録から取得した。
5. 観察期間：観察期間は移植ケースでは生着確認（末梢血中の好中球数が500/ $\mu$ L以上が3日連続で観察された1日目）から1週経過後、化学療法のためのケースでは退院時までとした。また、唾液及び末梢血中の白血球量が化学療法開始から最低値となるまでの日数（最低値記録日数）と、その後、回復するまでの日数を記録した。観察期間中に末梢血中、唾液中とも白血球量がベースラインまで回復しない例が多く観察されたため、回復するまでの日数は、ベースラインの50%以上に回復するまでの日数（50%回復日数）とした。

#### 4) 統計解析

年齢、BMI、末梢血白血球数、末梢血及び唾液白血球量の最低値記録日数、末梢血及び唾液白血球量の50%回復日数、抗がん剤投与日数、唾液白血球量、末梢血白血球数、現在歯数、未処置歯数、歯周ポケットを呈する歯数、最大ポケット長、BOPを呈する歯数、PCR、NRSは連続変数とした。末梢血白血球数は、 $10^3$ 細胞数/ $\mu$ Lを単位として示されている検査値を常用対数に変換した数値を用いた。また、白血球量の50%回復日数について、50%以上の回復が見られなかった場合、観察期間の終了時点までの日数とした。Kolmogorov-Smirnov検定による正規性の検定の結果、年齢、BMI、末梢血及び唾液白血球量の最低値記録日数、末梢血及び唾液白血球量の50%回復日数、口腔湿潤度スコアの分布の正規性を確認した。これら変数を数量尺度として扱い、2群間の差の検定にはt検定を用いた。正規性が確認できなかった連続変数は順序尺度として扱った。CTCAEのグレードは、異常のない場合をグレード0とし、

0~5 までの 6 段階の順序尺度として扱った。これら順序尺度の解析には、2 群間の差の検定には Mann-Whitney の U 検定を、2 変量間の関連の検討には Spearman の順位相関分析を用いた。

口腔粘膜炎発症の有無(あり/なし)、性別(男/女)、過去の喫煙習慣(あり/なし)、移植の有無(あり/なし)、抗がん剤投与の有無(あり/なし)及び歯周ポケットの保有(あり/なし)は名義尺度として用いた。移植は自家移植(2 件)、同種末梢血造血幹細胞移植(11 件)の異なる移植ソースがあったが、本研究ではこれらを区分しなかった。化学療法のレジメンには複数の薬剤が組み合わされることから、抗がん剤毎の投与の有無を変数に用いた。これらの名義変数と口腔粘膜炎の関連の検討には Fisher の直接確率検定法を用いた。さらに、ロジスティック回帰分析にこれら名義尺度を投入する場合は、0 または 1 の 2 値のダミー変数とした。

ロジスティック回帰分析で口腔粘膜炎の発症と最も強い関連が見られた唾液白血球量の 50% 回復日数について、口腔粘膜炎発症予測に関する受信者動作特性 (ROC) 分析を行った。

すべての統計解析には SPSS version 25 (日本 IBM, 東京) を用いた。

### 3. 研究倫理

本研究はヘルシンキ宣言に則り、岩手医科大学歯学部倫理委員会の承認(承認番号 #01311)を得て行った。研究参加への同意はすべて同意書をもって取得した。また、本研究報告は STROBE 声明に従って作成した。

## 【結 果】

### 1. 健常成人における唾液白血球に関する SillHa 測定値と唾液白血球数との関係

SillHa 値の平均値±標準偏差は 41.5 ± 26.5、白血球実数の中央値と分布範囲は 307 と 2-13,645 であった。また、白血球数の対数変換値の平均値±標準偏差は 2.32 ± 0.88 であった。性別による年齢、SillHa 値、白血球数対数値に差は認められなかった。

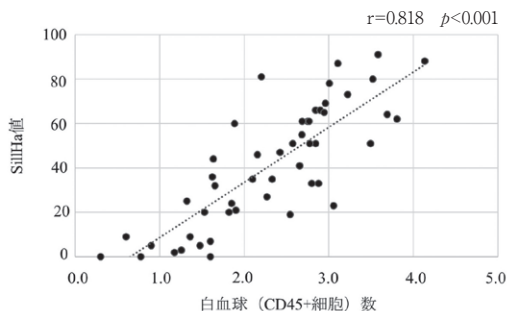


図 2. SillHa 値と白血球 (CD45 陽性細胞) 数の関連破線は最小二乗法による近似直線を示す。Pearson の相関係数 0.818 と高い相関が認められた。

全対象者において、SillHa 値と白血球数対数値の間には Pearson の相関係数  $r=0.818$  ( $p<0.001$ ) で強い相関関係が認められた(図 2)。

また、年齢と SillHa 値の間には  $r=0.535$  ( $p<0.001$ )、年齢と白血球数の間には  $r=0.412$  ( $p=0.003$ ) と、いずれの関係にも中程度の相関関係が認められた。

### 2. 化学療法患者の末梢白血球数、唾液白血球量と口腔粘膜炎発症の関連

1) 口腔粘膜炎の有無による対象者の属性、治療内容及び化学療法開始前の口腔内状況の比較観察期間中に口腔粘膜炎を発症した者は 13 名、発症しなかった者は 18 名だった。発症した 13 例の化学療法開始から口腔粘膜炎発症ま

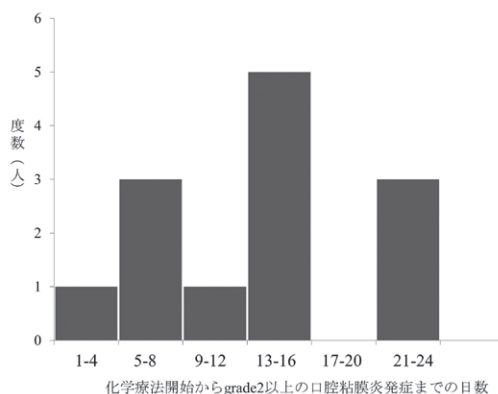


図 3. 化学療法開始から grade2 以上の口腔粘膜炎発症までの日数の分布

での日数の平均値は平均値 ± 標準偏差 12.8 ± 6.85 であり、最短 2 日、最長 23 日であった。口腔粘膜炎症までの日数を 4 日刻みの階級で表したヒストグラムを図 3 に示す。

**表 3.** 口腔粘膜炎症者と非炎症者の属性、末梢血白血球数ならびに原疾患治療概要の比較

	口腔粘膜炎症あり (N=13)	口腔粘膜炎症なし (N=18)	合計	p 値
男/女	5/8	13/5	18/13	0.079 <sup>a</sup>
年齢: 平均値 ± 標準偏差	45.5 ± 13.1	43.9 ± 11.8	44.6 ± 12.2	0.738 <sup>b</sup>
BMI: 平均値 ± 標準偏差	23.6 ± 3.87	23.6 ± 4.06	23.6 ± 3.89	0.990 <sup>b</sup>
過去の喫煙経験: あり/なし	11/2	14/4	25/6	1.00 <sup>a</sup>
現在の飲酒習慣: あり/なし	4/9	8/10	12/19	0.484 <sup>a</sup>
末梢血白血球数: 中央値, 分布範囲	3.62, 2.69-3.92	3.62, 3.12-3.93	3.62, 2.69-3.93	0.373
移植: 移植患者/化学療法のみ	8/5	6/12	14/17	0.157 <sup>a</sup>
放射線療法併用: あり/なし	2/11	5/13	7/24	0.667 <sup>a</sup>
抗がん剤投与期間 (日): 中央値, 分布範囲	4, 1-6	3, 2-7	3, 1-7	0.395 <sup>c</sup>
観察期間 (日): 中央値, 分布範囲	30, 14-48	21, 11-42	21, 11-48	<0.01 <sup>c</sup>
各種抗がん剤の投与: あり/なし				
シクロホスファミド	5/8	9/9	14/17	0.717 <sup>a</sup>
フルダラビン	5/8	2/16	7/24	0.099 <sup>a</sup>
ブスルファン	4/9	1/17	5/26	0.134 <sup>a</sup>
エトポシド	3/10	3/15	6/25	0.676 <sup>a</sup>
シタラビン	6/7	7/11	13/18	0.727 <sup>a</sup>
リツキシマブ	2/11	4/14	6/25	1.000 <sup>a</sup>
ドキシソルビシン	0/13	4/14	4/27	0.120 <sup>a</sup>
イダルビシン	2/11	1/17	3/28	0.558 <sup>a</sup>
ピンクリスチン	1/12	3/15	4/27	0.621 <sup>a</sup>
メルファラン	1/12	2/16	3/28	1.00 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Fisher の直接確率検定, <sup>b</sup>t 検定, <sup>c</sup>Mann-Whitney の U 検定

**表 4.** 口腔粘膜炎症者と非炎症者のベースライン時の口腔状況および唾液白血球量の比較\*

	口腔粘膜炎症あり (N=13)	口腔粘膜炎症なし (N=18)	合計	p 値
現在歯数: 中央値, 分布範囲	27, 4-32	28, 22-31	28, 4-32	0.170 <sup>c</sup>
未処置齲歯数: 中央値, 分布範囲	0, 0-13	0, 0-10	0, 0-13	0.157 <sup>c</sup>
歯周ポケットの保有: あり/なし	10/3	12/6	22/9	0.696 <sup>a</sup>
歯周ポケットを呈する歯数: 中央値, 分布範囲	1.0, 0-12	1.5, 0-10	1, 0-12	0.890 <sup>c</sup>
最大ポケット長: 中央値, 分布範囲	4.0, 3-10	4.5, 3-10	4, 3-10	1.00 <sup>c</sup>
BOP を呈する歯数: 中央値, 分布範囲	7.0, 1-13	5.5, 1-29	6, 1-29	0.798 <sup>c</sup>
PCR (%): 平均値 ± 標準偏差	56.6 ± 15.4	57.0 ± 15.7	56.8 ± 15.3	0.946 <sup>b</sup>
口腔湿潤度スコア: 平均値 ± 標準偏差	26.1 ± 1.81	27.2 ± 1.98	26.8 ± 1.97	0.110 <sup>b</sup>
唾液白血球量: 中央値, 分布範囲	59, 2-96	69, 7-94	65, 2-96	0.275 <sup>c</sup>

\* ベースライン時の CTCAE グレードと NRS は全ての対象者で 0

<sup>a</sup>Fisher の直接確率検定, <sup>b</sup>t 検定, <sup>c</sup>Mann-Whitney の U 検定

口腔粘膜炎発症の有無による, 属性及び生活習慣と原疾患治療内容及びベースライン時の末梢白血球数の比較を表3に示す。なお, 最近の喫煙歴を有する者はいなかったため, 表から除外した。口腔粘膜炎の発症と有意に関連したのは観察期間のみ ( $p<0.001$ ) であった。

表4に口腔粘膜炎発症の有無によるベースライン時の口腔内状況及び唾液白血球量を示す。口腔粘膜炎の発症と関連した測定項目は見られなかった。

### 3. 末梢血及び唾液中の白血球量の推移

観察期間中の末梢血白血球数と唾液白血球量

の推移を図4に示す。末梢血白血球数は, 化学療法開始後1週程度を経て緩やかに最低値に達し, 回復期もU字曲線を描くように緩やかな白血球数の上昇を呈し, 観察期間中にほとんどの者が化学療法開始前と同水準に回復し, ベースラインから50%以上回復しない者はいなかった。一方, 唾液白血球量は化学療法開始後, 末梢血と比較すると急速に最低値に低下し, 観察期間中に化学療法開始前のレベルに回復しない例が多く, ベースラインから50%以上の回復を認めない者は3名認められた。

末梢血白血球数と唾液白血球量の最低値記録日数及び, 50%回復日数を比較した結果を表5

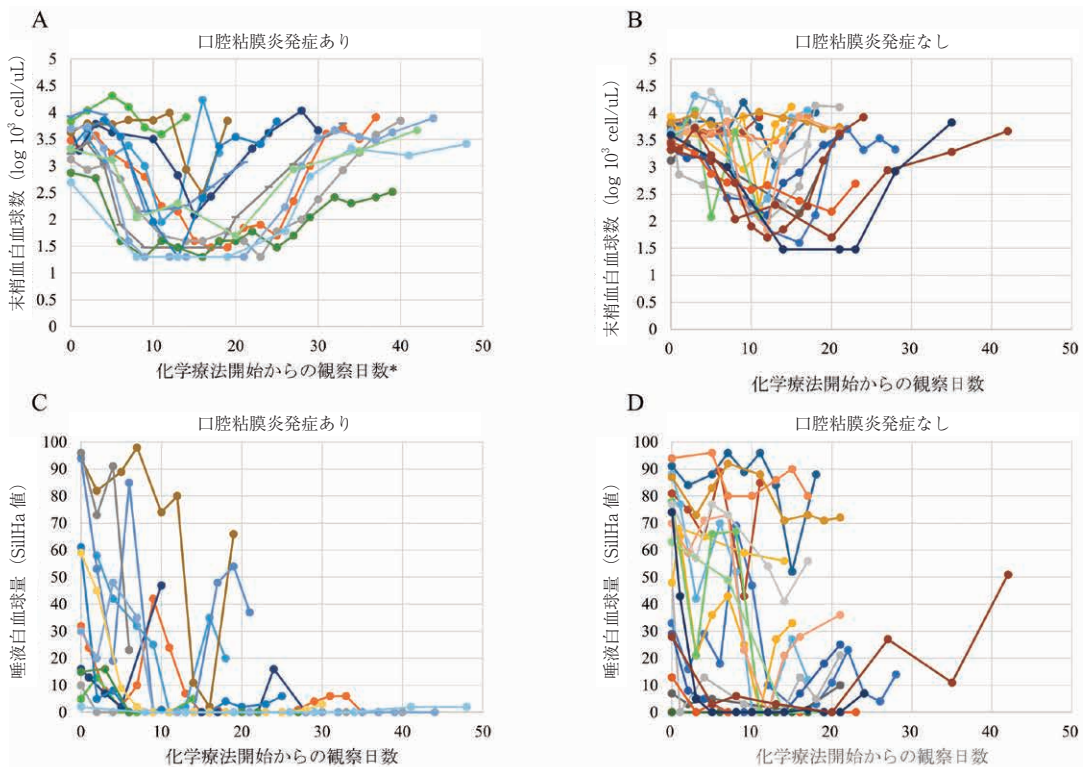


図4. 末梢血及び唾液中の白血球量の推移

グラフは対象者毎の白血球数(量)の推移を示す。

測定していない日の数値は欠測値とし, 前後の数値を折れ線でつないでいる。

\*0日は化学療法開始前を示す。

A: 末梢血白血球, 口腔粘膜炎発症あり, B: 末梢血白血球, 口腔粘膜炎発症なし

C: 唾液白血球, 口腔粘膜炎発症あり, D: 唾液白血球, 口腔粘膜炎発症なし



表 5. 末梢血と唾液の白血球が最低値に達するまでと 50% 以上に回復するまでの日数

	末梢血白血球数			唾液白血球量		
	口腔粘膜炎症あり (N=13)	口腔粘膜炎症なし (N=18)	p 値 *	口腔粘膜炎症あり (N=13)	口腔粘膜炎症なし (N=18)	p 値
最低値記録日数: 平均値±標準偏差	12.2 ± 4.42	12.7 ± 4.35	0.786*	9.15 ± 4.14	11.1 ± 5.26	0.270*
50% 回復日数: 平均値±標準偏差	11.5 ± 9.60	5.67 ± 8.12	0.080*	18.2 ± 13.0	6.44 ± 7.26	0.009*

表中の数値は平均値±標準偏差を示す。

\*t 検定

表 6. 口腔粘膜炎症に対する多重ロジスティック回帰分析結果 \*

	変数	偏回帰係数	調整オッズ比	p 値	95% 信頼区間
全変数投入モデル	観察期間	0.105	1.11	0.131	0.969-1.274
	唾液 50% 回復日数	0.089	1.09	0.095	0.985-1.214
	移植 **	-1.00	0.367	0.447	0.028-4.85
ステップワイズ変数 選択後 (最終モデル)	唾液 50% 回復日数	0.111	1.117	0.013	1.023-1.219

\* 従属変数：口腔粘膜炎症 (なし：0, あり：1)

\*\* 化学療法のための患者：0, 移植患者：1

に示す。最低値に達するまでの平均日数は口腔粘膜炎症発症者と非発症者で差を認めなかったが、50% 回復日数は口腔粘膜炎症発症者の方が多く、唾液については有意な差が認められた。さらに、口腔粘膜炎症の有無を従属変数、唾液の 50% 回復期間、観察期間ならびに治療内容の移植の有無を独立変数とした多重ロジスティック回帰分析を行った。その結果、ステップワイズ変数減少法による変数選択で、50% 回復日数のみが有意な変数として選択された (表 6)。

#### 4. 唾液白血球測定を用いた口腔粘膜炎症に対する受信者動作特性 (ROC) 分析

唾液白血球量の 50% 回復日数による口腔粘膜炎症予測精度に関する ROC 分析を行った結果を図 5 に示す。曲線下面積は 0.771 であり、12 日後をカットオフ値とした場合に感度 = 0.615, 1 - 特異度 = 0.167 で尤度比は、3.68 と最大になった。

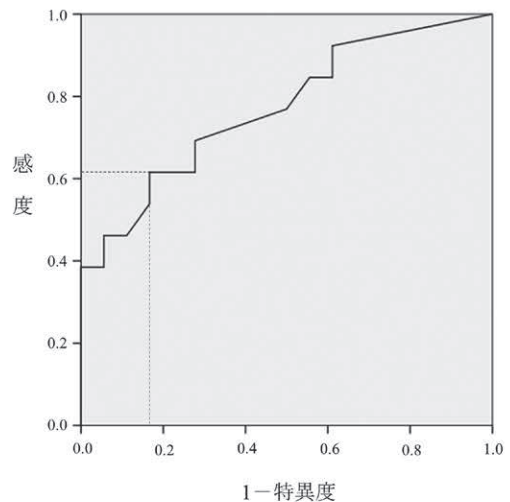


図 5. ベースライン時の 50% 以上唾液白血球量が回復するまでの日数を用いた口腔粘膜炎症に対する ROC 曲線  
図中の破線は最大尤度比を呈する曲線上の点に対する感度と 1 - 特異度を示す。

### 5. ベースライン時, 末梢血白血球数最少時及び回復時における末梢血白血球数と口腔内状況の関連

化学療法開始前のベースライン時, 末梢血白血球数が最低値を呈した時点及び化学療法開始後に末梢血白血球数が最も高値を呈した時点(回復時)それぞれにおける, 末梢血白血球数と唾液白血球量及び口腔内状態(口腔湿潤度スコア, CTCAE グレードならびにNRS)の関連を表7~9に示す. ベースライン時にはCTACEとNRSはすべて0なので, ベースライン時の分析から除外した.

ベースライン時に末梢血白血球数と唾液白血球量の間には弱い関連〔順位相関係数( $\rho$ )=0.378,  $p=0.036$ ]が認められ, 末梢血白血球が最少と

なった時点では中等度の相関( $\rho = 0.593$ ,  $p < 0.001$ )を呈した. その後, 末梢血白血球回復時には有意な相関を呈さなかった( $\rho = 0.316$ ,  $p = 0.095$ ).

CTCAE グレードは末梢血白血球数最低時( $\rho = 0.512$ ,  $p = 0.003$ ), 回復時( $\rho = 0.447$ ,  $p = 0.012$ )ともに, 主観的な口腔の痛みの指標であるNRSと有意な相関を呈した. また, NRSは末梢血白血球数最低時には末梢血白血球数と有意な負の相関を( $\rho = -0.530$ ,  $p = 0.002$ ), 回復時には唾液白血球量と有意な負の相関( $\rho = -0.447$ ,  $p = 0.015$ )を呈した. さらに回復時には, NRSは口腔湿潤度とも有意な負の相関( $\rho = -0.535$ ,  $p = 0.003$ )を呈した.

表7. ベースライン時の末梢血白血球と口腔内状況の関連\*

	末梢血白血球数	唾液白血球量	口腔湿潤度スコア
末梢血白血球数	1.000	0.378 0.036	0.146 0.422
唾液白血球量	0.378 0.036	1.000	0.143 0.450
口腔湿潤度スコア	0.146 0.422	0.143 0.450	1.000

\*Spearman の順位相関分析

上段の数値は順位相関係数, 下段の数値は  $p$  値を示す.

表8. 末梢血白血球数最低時における末梢血白血球と口腔内状況の関連\*

	末梢血白血球数	唾液白血球量	口腔湿潤度スコア	CTCAE グレード	NRS
末梢血白血球数	1.000	0.593 <0.001	0.127 0.511	-0.227 0.220	-0.530 0.002
唾液白血球量	0.593 <0.001	1.000	0.100 0.606	-0.030 0.874	-0.199 0.284
口腔湿潤度スコア	0.127 0.511	0.100 0.606	1.000	-0.007 0.971	-0.060 0.758
CTCAE	-0.227 0.220	-0.030 0.874	-0.007 0.971	1.000	0.512 0.003
NRS	-0.530 0.002	-0.199 0.284	-0.060 0.758	0.512 0.003	1.000

\*Spearman の順位相関分析

上段の数値は順位相関係数, 下段の数値は  $p$  値を示す.

表 9. 末梢血白血球数回復時における末梢血白血球と口腔内状況の関連\*

	末梢血白血球数	唾液白血球量	口腔湿潤度スコア	CTCAE グレード	NRS
末梢血白血球数	1.000	0.316	0.316	-0.227	-0.285
		0.095	0.095	0.220	0.120
唾液白血球量	0.316	1.000	0.283	-0.030	-0.447
	0.095		0.145	0.874	0.015
口腔湿潤度スコア	-0.074	0.283	1.000	-0.007	-0.535
	0.702	0.145		0.971	0.003
CTCAE	-0.226	-0.285	-0.227	1.000	0.447
	0.221	0.134	0.236		0.012
NRS	-0.285	-0.447	-0.535	0.447	1.000
	0.120	0.015	0.003	0.012	

\*Spearman の順位相関分析

上段の数値は順位相関係数, 下段の数値は  $p$  値を示す.

## 【考 察】

岩手医科大学血液腫瘍内科で化学療法を受けた患者 31 名中, 観察期間内に口腔粘膜炎症を発症した者は 13 名, 約 41.9% であり, 発症頻度はこれまでの報告<sup>1)~4)</sup>の範囲内であった.

末梢血の白血球数の回復に日数を要する症例では必然的に観察期間が長くなること, 末梢血の白血球数の動態と唾液白血球量の動態がある程度連動していること, さらに移植患者では化学療法のみ患者よりも観察期間が長いこと (移植例の中央値 32.5, 化学療法のみ患者の中央値 18.0,  $p < 0.001$ , 結果には示さず.) から, これら関連要因間の交絡を調整するため, それらを独立変数とし, 口腔粘膜炎症の発症を従属変数としたロジスティック回帰分析を行ったところ, ステップワイズ変数選択で唾液の 50% 回復日数のみが有意な変数として選択された. そこで唾液の 50% 回復日数から, 口腔粘膜炎症発症を予測した場合の有効性を ROC 分析で検討した. その結果, 曲線下面積 0.771 と高い識別性が得られ, 12 日後をカットオフ値とした場合に最も高い尤度比となった.

一次性の口腔粘膜炎症は化学療法開始直後から発症し, その後病原体の侵入を受けることによ

り二次的に口内炎が憎悪し 7 - 10 日頃に最重篤化すると考えられている<sup>41)</sup>. しかし本調査では化学療法開始後 13 日以降の発症が 2/3 を占めており, 治療期間中〜終盤に発症する例が多くみられた. これらの発症に抗がん剤が直接関与していることは考えにくく, 口腔の易感染性が続いたことにより, 二次性口腔粘膜炎症が初発したものと考えられる. このような治療期間晩期の粘膜炎症発症の予測に関して, 唾液白血球測定が有用である可能性が示された.

Pink ら<sup>35)</sup>は血液中の好中球の上昇に先行して唾液中の好中球が上昇したと報告している. しかし, 白血球は唾液腺から分泌される固有成分ではなく, 末梢血中の白血球が歯周組織の間隙から歯肉溝浸出液などによって口腔内に侵入することで全唾液中に混入すると考えられており<sup>8)~10)</sup>, その由来を考えれば末梢血白血球数が上昇する前に唾液白血球が上昇することは考えにくい. 本研究で末梢血白血球上昇に数日遅れて唾液白血球が上昇する例, あるいは観察期間中に低下したままの症例が多く見られたことは時間的に整合性のある妥当な結果と考えられた. さらに, 唾液白血球量の回復が遅い場合に口腔粘膜炎症が発症したことは, その原因が口腔内の易感染性が長期間続いたことによると推察される. すな

わち、抗がん剤の直接的作用による一次性口腔粘膜炎と口腔の易感染性による二次性の口腔粘膜炎は発症機序と同時に好発時期も異なることが推察される。以上のことから化学療法患者のケアにおいて、一次性と二次性の口腔粘膜炎は区別して考慮するべきではないかと考えられた。

本対象集団ではこれまで報告されてきた口腔粘膜炎の宿主側の発症リスクのうち、女性については発症頻度が高い傾向が認められ（男性 27.8%, 女性 61.5%,  $p=0.079$ ）、これまでの報告をある程度支持するものであったが、低体重、高齢との関連は見られなかった。体重、年齢については、既報においても著明な差ではなく、肥満の者で発症頻度が高い例、高齢よりも中年期の方が高い例、他の要因との交絡などが報告されており<sup>11)・42)・44)</sup>、口腔粘膜炎発症の確実な関連要因とはいえないことが本研究結果からも示唆された。また、本研究では口腔粘膜炎発症に対する投薬内容の有意な関連は見られなかった。投薬内容との関連を検討するためには実際に適用されているレジメン単位で分析が必要と考えられるが、本研究では参加者 31 名に対し 20 種のレジメンが使用されており、レジメン単位での分析に耐える対象者数ではなく、抗がん剤単位で検討したため関連が見られなかったものと推察された。同様に、造血幹細胞移植患者では口腔粘膜炎発症率は高いというこれまでの報告に対して、本研究では化学療法のみの方の口腔粘膜炎発症率 33.3% に対して移植患者では 61.5% と、移植患者で高頻度に発症する傾向を認めた ( $p=0.157$ ) が有意な差ではなかった。加えて、放射線療法の併用も口腔粘膜炎の発症要因とされているが<sup>11)・12)・45)</sup>、本研究では関連が見られなかった。これらのことも、対象者数が少ないことによる検出力不足のためと考えられた。さらに、ベースライン時の口腔内状況と口腔粘膜炎発症の関連も認めなかった。ベースライン時の PCR 値は全対象者で平均 56.8% と高値であったが、対象者は全て施術前の口腔管理を依頼された患者であるため、化学療法開始までに歯科医師または歯科衛生士による専門的

口腔清掃及び口腔清掃指導に加え、必要に応じた歯科疾患処置を行っていた。そのためにベースライン時の口腔内状態は口腔粘膜炎発症に影響を及ぼさなかったことが推察された。

本研究では、予備研究として健全成人を対象に簡易検査装置 SillHa による白血球量測定の高信頼性を検討した。その際にフローサイトメトリーによる CD45 陽性細胞数を白血球数の基準として用いた。フローサイトメトリーによる白血球数の測定は血液や唾液サンプルについて、サブセット解析を目的として広く用いられて、高い信頼性が確認されている<sup>46)・48)</sup>。しかし SillHa が白血球のサブセットまでは測定できないため、本研究では白血球共通抗原である CD45 抗体を用いて唾液の総白血球数を測定し、SillHa 値との相関を検討した。その結果得られた相関係数 ( $r=0.818$ ) は、ラテックス凝集反応による白血球数と比較した既報<sup>49)</sup>の結果 ( $r=0.67$ ) より高かった。これらにより、SillHa 値が唾液白血球量の指標として妥当であることが示された。また、SillHa 値、唾液白血球数のいずれも年齢と中程度の相関が見られたことは、年齢と歯周病の関係が間接的に現れたものと考えられた。

本研究で得られた唾液白血球の 50% 回復日数のカットオフ値 (12 日) により口腔粘膜炎晩期発症に対するハイリスク者を同定しようとするなら、化学療法前と化学療法開始後の複数回、唾液白血球量を測定してベースライン値と最低値到達日を確認した後、さらに 12 日後にも測定してベースライン値と比較する必要がある。加えて検査結果が迅速に得られなければ、ハイリスク者への有効なケアに繋がらない。このように患者に対して検査を頻回実施し、検査結果の変動をケアの指標とするためには、検査方法の迅速性と簡便性は重要な要素であり、SillHa を用いた唾液白血球量測定の高信頼性は高いと考えられた。

唾液白血球量と末梢血白血球数の関連は、末梢血白血球数最低時に  $p = 0.593$  と最も強く、末梢血白血球数回復時に  $p = 0.316$  と最も低

かった。これらの結果は健常者においては末梢血多核白血球の量と唾液中多核白血球の量との相関が低い、末梢血の白血球が極端に減少した場合には唾液中と末梢血の白血球数に相関が観察されるという従来の報告<sup>32)~35)</sup>を支持している。全身状態が健全な場合、定常的な唾液中白血球数の個人差は、末梢血中白血球の量よりもむしろ歯周組織の状態に影響され、そのことにより歯周組織の炎症状態の指標として用いられる<sup>50)</sup>。しかし化学療法患者のように、供給源である末梢血中白血球数が極端に減少した場合は、その影響が唾液白血球量に現れ、その結果、末梢血白血球数最低時に最も高い相関が観察されたものと考えられた。さらに、本研究では白血球量の回復が末梢血よりも唾液で遅延したため、末梢血白血球数回復時の相関が低かったことも回復期の低い相関の原因と推察された。

口腔粘膜炎症の指標であるCTCAEと他の口腔内状況との関連を検討した結果、末梢血白血球数最低時、回復期ともにCTCAEとNRSに有意な関連を認めた。NRSは主観的な痛みの尺度であり、術期患者のQOLに直接影響する<sup>51)</sup>。末梢血中白血球の状況によらず、口腔粘膜の状態がNRSと関連したことは、口腔粘膜炎症の予防が術期における患者QOLの維持向上に寄与することを改めて示したものと考えられる。さらにNRSは、末梢血白血球数最低時には末梢血中の白血球数と、末梢血白血球数回復時には唾液中の白血球量と有意な負の相関を呈し、それら白血球が減ると痛みが強くなることが示された。一方、末梢血白血球数と唾液白血球量はいずれの場合もCTCAEと有意な関連は呈さなかった。口腔粘膜炎症と白血球量の関係には、白血球量低下から粘膜炎症までの時間差、粘膜炎症の出血による白血球の唾液中への放出など、多くの要因が関与することが想定され、そのため本研究で口腔粘膜炎症の重篤性と白血球量の関連までは明確に現れなかったものと考えられた。

本研究にはいくつかの限界がある。まず、研究参加者数が31名と少ないこと、また対象と

した岩手医科大学附属病院血液腫瘍内科から化学療法前の口腔管理依頼のあった入院患者は確率サンプルではなく、岩手医科大学附属病院の化学療法適用や患者の地域特性といった選択バイアスが推定できないことが挙げられる。本研究結果を一般化するためには今後、唾液白血球と化学療法中の口腔粘膜炎症の関連に焦点を当てた複数の医療施設での検討が必要である。さらに、本研究では、口腔粘膜炎症の病巣から感染性微生物の検出を行っていないため、観察期間後期に発生した口腔粘膜炎症が一次性、二次性のいずれのタイプかを同定することはできなかった。これまでに発症時期による口腔粘膜炎症のタイプの差に関する報告はなく、これについても今後検討を要する課題であると考えられる。さらに、成人におけるSillHaによる唾液白血球量測定信頼性の検討で、唾液どうしの関連を検討したものの、末梢血白血球数並びに口腔内状況との比較は行っていないことから、口腔内状況の末梢血白血球数と唾液白血球量の関連への影響は本研究からは不明である。今後、歯周組織の状態を交絡因子として考慮できるように唾液白血球量計測への影響を検討することで口腔粘膜炎症発症の予測精度を向上させることができるものとする。

以上のような限界はあるものの、対象集団内での比較で、唾液白血球の50%回復日数という口腔粘膜炎症の予測因子が示唆されたことは臨床的に非常に有用と考えられた。また、この指標は観察期間後期から晩期の口腔粘膜炎症発症を予測することになるため、比較的長期間骨髄抑制が続く患者の口腔粘膜炎症発症を予測することになる。骨髄抑制の副作用は発熱、腹痛、悪心、脱毛など全身に発現する<sup>52) . 53)</sup>。これらが長期に続き、そこに加えて口腔粘膜炎症が発症すれば、患者のQOLは著しく低下することが予測される。これまで化学療法患者の口腔粘膜炎症発症の要因は数多く検討されてきたが、その発症時期によるケアの違いを検討した例はなく、本研究結果は、化学療法患者のケアについて新たな視点を提供したものとする。

## 【結 論】

岩手医科大学血液腫瘍内科で化学療法を受けた患者 31 名の口腔粘膜炎の発症と末梢血及び唾液白血球量の関連を調査した結果, 唾液白血球量の回復は末梢血白血球よりも遅れて生じ, 唾液白血球量がベースラインの 50 % 以上まで回復するのにかかる日数は口腔粘膜炎の発症と有意に関連していた。

本研究で用いた唾液検査装置による白血球測定法は, フローサイトメトリーによる唾液白血球数測定と高い相関を呈し, 方法の簡便さから, 化学療法中の患者への適用性が高いものと考えられた。

## 【謝 辞】

本研究を遂行するにあたり, 多大なるご協力をいただきました血液腫瘍内科分野の皆様方に感謝いたします。さらに, 多くのご協力をいただきました予防歯科学分野の佐藤俊郎先生をはじめ諸先生方に御礼申し上げます。

本研究の一部は, 文部科学省 2018 年度科学研究費 (課題番号 18K09889) によって行われた。

## 【利益相反】

本研究について, 開示すべき利益相反はない。

## 【文 献】

- 1) Lalla, R. V., Sonis, S. T., and Peterson, D. E.: Management of oral mucositis in patients with cancer. *Dent. Clin. North Am.*, 52 (1) : 61-viii, 2008.
- 2) Lalla, R. V., Bowen, J., Barasch, A., Elting, L., Epstein, J., Keefe, D. M., McGuire, D. B., Migliorati, C., Nicolatou-Galitis, O., Peterson, D. E., Raber-Durlacher, J. E., Sonis, S. T., Elad, S. and The mucositis guidelines leadership group of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer and International Society of Oral Oncology.: MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. *Cancer*, 120: 1453-1461, 2014.
- 3) Rubenstein, E. B., Peterson, D. E., Schubert, M., Keefe, D., McGuire, D., Epstein, J., Elting, L. S., Fox, P. C., Cooksley, C., Sonis, S. T.: Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. *Cancer*, 100 (9 Suppl.) : 2026-2046.
- 4) Pulito, C., Cristaudo, A., La Porta, C., Zapperi, S., Blandino, G., Morrone, A., and Strano S.: Oral mucositis: the hidden side of cancer therapy. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 7:210. Doi 10.1186/s13046-020-01715-7, 2020.
- 5) Sonis, S. T., Oster, G., Fuchs, H., Bellm, L., Bradford, W. Z., and Edelsberg, J.: Oral mucositis and the clinical and economic outcomes of hematopoietic stem-cell transplantation. *J. Clin. Oncol.* 19: 2201-2205, 2001.
- 6) 寺岡加代, 田中義弘, 大西徹郎, 岸本裕充, 瀧本庄一郎, 内藤克美, 宮城島俊雄, 足立三枝子, 大西淑美, 塚本敦美: 入院患者に対する包括的口腔管理システムの構築に関する研究班: 入院患者に対する包括的口腔管理システムの構築に関する研究-口腔ケアの標準化に向けての試行研究ならびに先駆的取り組み-. 財団法人 8020 推進財団, 2006.
- 7) 神田麻衣, 竹熊比梨留, 佐藤美穂: LEED 療法クリティカルパス・患者用パスの改定. 国立病院機構熊本医療センター医学雑誌, 15: 117-120, 2016.
- 8) 岩田 香, 良田紀子, 疋田亜美, 山東真寿美, 鈴木秀和, 田宮基裕, 東 祐一郎, 谷 恵利子, 濱口眞成, 田中彩子, 白山敬之, 森下直子, 岡本紀雄, 二神寿美子, 平島智徳: アファチニブ導入期 28 日間におけるアファチニブ・パス運用の後方視的検討 日本版 Collaborative Drug Therapy Management (J-CDTM) の実践. 癌と化学療法, 42: 967-972, 2015.
- 9) 阿部晶子, 千葉舞美, 熊谷佑子, 赤松順子, 岸 光男: 造血幹細胞移植後に再発した白血病に対し再移植を行った患者の口腔管理の 1 例. 岩医大歯誌, 40: 85-92, 2015.
- 10) Vokurka, S., Steinerova, K., Karas, M., and Koza, V.: Characteristics and risk factors of oral mucositis after allogeneic stem cell transplantation with FLU/MEL conditioning regimen in context with BU/CY2. *Bone Marrow Transplant.*, 44: 601-605, 2009.
- 11) Robien, K., Schubert, M. K., Bruemmer, B., Lloid, M. E., Potter, J. D., and Ulrich, C. M.: Predictors of oral mucositis in patients receiving hematopoietic cell Transplants for chronic myelogenous leukemia. *J. Clin. Oncol.*, 22: 1268-1275, 2004.
- 12) Ohbayashi, Y., Imataki, O., Ohnishi, H., Iwasaki, A., Ogawa, T., Inagaki, N., Shigeta, H., Ohue, Y., Tasaka, T., Kitanaka, A., Kubota, Y., Tanaka, T., Ishida, T., and Miyake, M.: Multivariate analysis of factors influencing oral mucositis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann. Hematol.* 87: 837-845, 2008.
- 13) Chaudhry, H. M., Bruce, A. J., Wolf, R. C., Lit-zow, M. R., Hogan, W. J., Patnaik, M. S., Kremers, W. K., Phillips, G. L., and Hashmi, S. K.: The inci-

- dence and severity of oral mucositis among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients: a systematic review. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 22: 605-616, 2016.
- 14) Niscola, P., Romani, C., Cupelli, L., Scaramucci, L., Tendas, A., Dentamaro, T., Amadori, S., and de Fabritiis, P.: Mucositis in patients with hematologic malignancies: an overview. *Haematologica*, 92: 222-231, 2007.
- 15) Curra, M., Soares, Junior L. A. V., Martins, M. D., and Santos, P. S. D. S.: Chemotherapy protocols and incidence of oral mucositis. An integrative review. *Einstein (Sao Paulo)*, 16: 1-9, 2018.
- 16) Goldberg, S. L., Chiang, L., Selina, N., and Hamarman, S.: Patient perceptions about chemotherapy-induced oral mucositis: implications for primary/secondary prophylaxis strategies. *Support. Care Cancer* 12: 526-530, 2004.
- 17) Vokurka S., Bystrická E., Koza V., Scudlová J., Pavlicová V., Valentová D., Visokaiová M., and Misaniová L., Higher incidence of chemotherapy induced oral mucositis in females: a supplement of multivariate analysis to a randomized multicentre study. *Support. Care Cancer*, 14: 974-976, 2006.
- 18) Saito, N., Imai, Y., Muto, T., and Sairenchi, T.: Low body mass index as a risk factor of moderate to severe oral mucositis in oral cancer patients with radiotherapy. *Support. Care Cancer*, 20: 3373-3377, 2012.
- 19) Vokurka, S., Steinerova, K., Karas, M., and Koza, V.: Characteristics and risk factors of oral mucositis after allogeneic stem cell transplantation with FLU/MEL conditioning regimen in context with BU/CY2. *Bone Marrow Transplant.*, 44: 601-605, 2009.
- 20) Çakmak, S., and Nural, N.: Incidence of and risk factors for development of oral mucositis in outpatients undergoing cancer chemotherapy. *Int. J. Nurs. Pract.*, 25: e12710, 2019.
- 21) Du, X. L., Osborne, C., and Goodwin, J. S.: Population-based assessment of hospitalizations for toxicity from chemotherapy in older women with breast cancer. *Clin. Oncol.* 20: 4636-4642, 2002.
- 22) Levy-Polack, M. P., Sebelli, P., and Polack, N. L.: Incidence of oral complications and application of a preventive protocol in children with acute leukemia. *Spec. Care Dentist.*, 18: 189-193, 1998.
- 23) Lockhart, P. B., and Kutcher, M. J.: Oral considerations for the cancer patient. *N. C. Med. J.* 52: 549-556, 1991.
- 24) 厚生労働省：重篤副作用疾患別対応マニュアル 抗がん剤による口内炎。厚生労働省，2009。
- 25) Berger, A. M., and Kilroy, T. J.: In: *Oral complications: Principles and Practice of Oncology*. 5th ed. DeVita, V. J. Jr., Hellmen, S., Rosenberg, S. A., editors. Philadelphia, P. A.: Lippincott Raven, p2714, 1997.
- 26) Verdi, C. J.: Cancer therapy and oral mucositis. *Drug Saf.* 9:185-195, 1993.
- 27) Sonis, S. T., Elting, L. S., Keefe, D., Peterson, D. E., Schubert, M., Hauer-Jensen, M., Bekele, B. N., Raber-Durlacher, J., Donnelly, J. P., Rubenstein, E. B.: Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer*. 100 (9 Suppl) : 1995-2025, 2004.
- 28) Rijkschroeff, P., Loos, B. G., Nicu, E. A.: Oral polymorphonuclear neutrophil contributes to oral health. *Curr. Oral Heal. Rep.* 5: 211-220, 2018.
- 29) Dancey, J. T., Deubelbeiss, K. A., Harker, L. A., and Finch, C. A.: Neutrophil kinetics in man. *J. Clinial Investig.* 58: 705-715, 1976.
- 30) Schiött C. R., and Løe H.: The origin and variation in number of leukocytes in the human saliva. *J. Periodont. Res.* 5: 36-41, 1970.
- 31) Barros, S. P., Williams, R., Offenbacher, S., and Morelli, T.: Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol.* 2000, 70: 53-64, 2016.
- 32) Uriarte, S. M., Edmission, J. S., and Jimenez-Flores, E.: Human neutrophils and oral microbiota: a constant tug-of-war between a harmonious and a discordant coexistence. *Immunol. Rev.* 273: 282-298, 2016.
- 33) Domnich, M., Riedesel, J., Pylaeva, E., Kürten, C. H. L., Buer, J., Lang, S., and Jablonska, J.: Oral Neutrophils: underestimated players in oral cancer. *Front. Immunol.* 11: 565683, doi: 10.3389/fimmu.2020.565683, eCollection 2020.
- 34) Rijkschroeff, P., Jansen, I. D., van der Weijden, F. A., Keijser, B. J., Loos, B. G., and Nicu, E. A.: Oral polymorphonuclear neutrophil characteristics in relation to oral health: a cross-sectional, observational clinical study. *Int. J. Oral Sci.* 8: 191-198, 2016.
- 35) Pink, R., Vondrakova, J., Tvrdy, P., Michl, P., Pazdera, J., Faber, E., Skoumalova, I., and Indark, K.: Salivary neutrophils level as an indicator of bone marrow engraftment. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc. Czech Repub.* 153: 263-269, 2009.
- 36) WHO Oral Health Survey: Basic Methods 5th edition.
- 37) O'Leary, T. J., Drake, R. B., and Naylor, J. E.: The plaque control record. *J. Periodontol.* 43: 38, 1972.
- 38) Trotti, A., Colevas, A. D., Setser, A., Rusch, V., Jaques, D., Budach, V., Langer, C., Murphy, B., Cumberlin, R., Coleman, C. N., and Rubin, P.: CT-CAE v3.0: development of a comprehensive grading system for the adverse effects of cancer

- treatment. *Semin. Radiat. Oncol.* 13: 176-181, 2003.
- 39) Fukushima, Y., Sano, Y., Isozaki, Y., Endo, M., Tomoda, T., Kitamura, T., Sato, T., Kamijo, Y., Haga, Y., and Yoda, T.: A pilot clinical evaluation of oral mucosal dryness in dehydrated patients using a moisture-checking device. *Clin. Exp. Dent. Res.* 5: 116-120, 2019.
- 40) Williamson, A., and Hoggart, B.: Pain: a review of three commonly used pain rating scales. *J. Clin. Nurs.* 14: 798-804, 2005.
- 41) Pico, J. L., Avila-Garavito, A., and Naccache, P.: Mucositis: Its Occurrence, Consequences, and Treatment in the Oncology Setting. *Oncologist* 3: 446-451, 1998.
- 42) Wuketich, S., Hienz, S. A., and Marosi, C.: Prevalence of clinically relevant oral mucositis in outpatients receiving myelosuppressive chemotherapy for solid tumors. *Support Care Cancer*, 20: 175-183, 2012.
- 43) Chen, S. C., Lai, Y. H., Huang, B. S., Lin, C. Y., Fan, K. H., and Chang, J. T.: Changes and predictors of radiation-induced oral mucositis in patients with oral cavity cancer during active treatment. *Eur. J. Oncol. Nurs.* 19: 214-219, 2015.
- 44) Davidov, M., Perry, C., Herishanu, Y., Sarid, N., Rom, E., Amit, O., Eshel, R., Naparstek, E., Avivi, I., and Ram, R.: Toxicity and efficacy of autologous hematopoietic cell transplantation in elderly patients with aggressive lymphoma: a historical prospective study. *Ann. Hematol.* 97: 459-466, 2018.
- 45) Chaudhry, H. M., Bruce, A. J., Wolf, R. C., Lit-zow, M. R., Hogan, W. J., Patnaik, M. S., Kremers, W. K., Phillips, G. L., and Hashmi, S. K.: The incidence and severity of oral mucositis among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients: A systematic review. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 22: 605-616, 2016.
- 46) Paiva, B., Almeida, J., Pérez-Andrés, M., Mateo, G., López, A., Rasillo, A., Vidriales, M. B., López-Berges, M. C., Miguel, J. F., Orfao, A.: Utility of flow cytometry immunophenotyping in multiple myeloma and other clonal plasma cell-related disorders. *Cytometry B Clin. Cytom.* 78 (4) : 239-252, 2010.
- 47) Vidović, A., Vidović Juras, D., Vučićević Boras, V., Lukač, J., Grubišić-Ilić, M., Rak, D., and Sabioncello, A.: Determination of leucocyte subsets in human saliva by flow cytometry. *Arch. Oral Biol.* 57: 577-583, 2012.
- 48) Aps, J. K., Van den Maagdenberg, K., Delanghe, J. R., and Martens, L. C.: Flow cytometry as a new method to quantify the cellular content of human saliva and its relation to gingivitis. *Clin. Chim. Acta.*, 321: 35-41, 2002.
- 49) 西永英司, 内山千代子, 牧 利一, 斉藤浩一, 深澤 哲, 鈴木苗穂, 山本高司, 村 越倫明, 大寺基靖, 福田 功, 大久保章男, 富士谷盛興, 千田 彰: 唾液による総合的な口腔検査法の開発ー従来の分析法との比較による多項目唾液検査システム (AL-55) の測定値の妥当性及び信頼性の検討ー. *日歯保存誌*, 58: 321-330, 2015.
- 50) Landzberg, M., Doering, H., Aboodi, G. M., Tenenbaum, H. C., and Glogauer, M.: Quantifying oral inflammatory load: oral neutrophil counts in periodontal health and disease. *J. Periodontol Res.* 50: 330-336, 2015.
- 51) Takahashi, N., Kasahara, S., and Yabuki, S.: The Objective Evaluation for Pain, and QOL. *Jpn. J. Rehabil. Med.* 53: 596-603, 2016. (in Japanese)
- 52) Oun, R., Moussa, Y. E., and Wheate, N. J.: The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalton Trans.* 45: 6645-6653, 2018.
- 53) Bertolotti, P., Bilotti, E. B., Colson, K., Curran, K., Doss, D., Faiman, B., Gavino, M., Jenkins, B., Lilliby, K., Love, G., Mangan, P. A., McCullagh, E., Miceli, T., Miller, K., Rogers, K., Rome, S., Sandifer, S., Smith, L. C., Tariman, J. D., Westphal, J.: Management of side effects of novel therapies for multiple myeloma: consensus statements developed by the International Myeloma Foundation's Nurse Leadership Board. *Clin J Oncol Nurs.* 2008 Jun;12 (3 Suppl) : 9-12.



# Association of oral mucositis occurrence with changes of leucocyte levels in saliva and peripheral blood during chemotherapy: a clinical longitudinal study

Yukiko SUGIYAMA, Tatsuo OYAKE, Naoyuki CHOSA, Hanako SATO, Akiko ABE, and Mitsuo KISHI

<sup>1)</sup> Division of Preventive Dentistry, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Iwate Medical University,

(Chief: Prof. Mitsuo KISHI)

<sup>2)</sup> Division of Hematology and Oncology, Department of Internal Medicine, Iwate Medical University,

(Chief: Prof. Shigeki ITO)

<sup>3)</sup> Division of Cellular Biosignal Sciences, Department of Biochemistry, Iwate Medical University,

(Chief: Prof. Akira ISHISAKI)

[Received : December 6 2021 : Accepted : January 5 2022]

## Abstract

**Background:** Oral mucositis is the most common adverse event seen in chemotherapy patients. While it is widely accepted that salivary leucocytes contribute to maintain oral mucosal health, their association with oral mucositis occurred in patients during chemotherapy is unknown.

**Aim:** As a preliminary study, we examined the reliability and applicability of salivary leukocyte assays with a commercially available testing device (SillHa, Arkrey, Japan) in healthy volunteers. In subsequent clinical observational study using the testing device, we aimed primarily to elucidate the association of the occurrence of oral mucositis with changes in leukocyte levels of saliva and peripheral blood in chemotherapy patients.

**Methods:** SillHa (Arkrey, Japan) was used as a commercially available testing device. Leukocyte levels in saliva samples from 50 healthy adult volunteers were determined both with SillHa and CD45 positive cell counts by flow cytometry. For subsequent clinical longitudinal study with the occurrence of oral mucositis as the primary outcome, thirty-one patients undergoing chemotherapy at Iwate Medical University Hospital participated in the study after providing informed consent for use of the findings in an anonymous manner. Data regarding attributes, lifestyle factors, and treatments received for the primary disease were obtained from medical records. Each underwent an oral examination before starting chemotherapy (baseline) . Thereafter, leukocyte levels in saliva and peripheral blood were determined approximately every two days. This study followed the Declaration of Helsinki and STROBE statement for reports of observational studies.

**Results:** The correlation coefficient between measurements by SillHa and flow cytometry showed high value ( $r=0.818$ ,  $p<0.001$ ) . In the patients undergoing chemotherapy, oral mucositis occurred in 41.9% participants during the observation periods. Among the data analyzed in this study, the strongest relationship with occurrence of oral mucositis was found to be number of days from lowest recorded salivary leukocyte count to recovery to more than 50% of the baseline value. In ROC

analysis, the area under the curve was 0.771, indicating a high capacity to discriminate between patients with and without occurrence of oral mucositis.

**Conclusion:** The present findings indicate that changes in salivary leukocyte levels measured with a commercially testing device is useful to predict occurrence of oral mucositis in patients receiving chemotherapy.

**Key words:** oral mucositis, saliva, peripheral blood, chemotherapy, leukocyte