

唾液中テストステロン濃度の加齢に伴う変化についての検討

札幌医科大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 熊本悦明教授)

郝 金瑞*, 伊藤 直樹, 新田 俊一

黒畑 敏江, 塚本 泰司, 熊本 悦明

旭川赤十字病院泌尿器科 (部長: 梅原次男)

梅 原 次 男

CHANGES IN THE SALIVARY TESTOSTERONE LEVEL WITH AGE

Hao Jinrui, Naoki Itoh, Toshikazu Nitta,

Toshie Kurohata, Taiji Tsukamoto and Yoshiaki Kumamoto

From the Department of Urology, Sapporo Medical University, School of Medicine, Sapporo

Tsugio Umehara

From the Department of Urology, Asahikawa Red-Cross Hospital

Measurement of the level of free testosterone is important in the evaluation of testicular function. Because most of the testosterone in the saliva is in the free form, measurement of the salivary testosterone level is considered to be effective for the evaluation of testicular function. In the present study, a commercial kit was employed to measure the salivary testosterone level, and the change in the salivary testosterone level with age was investigated.

The subjects of this study were 76 males, 20~89 years of age, with no endocrinological diseases. The concentration of testosterone in the saliva was measured for each of the subjects, and for 34 of the subjects the concentrations of total testosterone and free testosterone in the serum were also measured at the same time. Standard serum was diluted to have a testosterone concentration of 50pg/ml, and the results indicated that it was sufficiently possible to measure the salivary testosterone.

The coefficient of correlation between the salivary testosterone concentration and the serum total testosterone concentration was 0.479 ($p<0.01$), while the coefficient of correlation between the salivary testosterone concentration and the serum free testosterone concentration was 0.732 ($p<0.001$). These findings thus indicate that the correlation between the salivary testosterone concentration and the serum free testosterone concentration is better than that between the salivary testosterone concentration and the serum total testosterone concentration. It was also demonstrated that the salivary testosterone concentration decreased significantly with aging after the fifth decade of life. The correlation coefficient for that relationship was -0.606 ($p<0.001$), and the change was similar to that seen in the serum free testosterone concentration as a function of aging.

The findings suggested that measurement of the salivary testosterone concentration with the commercial kit is useful for the evaluation of testicular function.

(Acta Urol. Jpn. 40: 807-811, 1994)

Key words: Salivary testosterone, Free Testosterone, Aging

緒 言

唾液中ステロイドホルモン測定は検体採取上の侵襲がなく, 小児や繰り返し採取の場合に適している。ま

た室温での安定性も優れているため, 病院外での採取も可能である^{1,2)}。これら検体採取上の利点に加えて, 唾液中ステロイドホルモンは血中遊離型ステロイドホルモンとよく相関することが知られており, すでにテストステロン等多くのステロイドホルモンに関する測定, 臨床応用が試みられている³⁾。

* 現: 北京医科大学泌尿外科

泌尿器科領域においては精巣機能の評価に血中テストステロン、特に遊離テストステロン測定が重要であることから⁴⁾ 唾液中テストステロン測定が精巣機能を評価する上で臨床上有用と考えられ、以前に思春期男子における唾液中テストステロン値を報告した⁵⁾。そこで今回は思春期以後の成人の加齢に伴う唾液中テストステロン濃度の変化についての検討を行った。また今後唾液中テストステロン測定を広く臨床応用するために唾液中テストステロンが血清用測定キットを用いて簡便に行いえるのかという点に関する基礎的検討を同時に行った。

対象および方法

20～89歳の内分泌疾患のない男性76名を対象として唾液 4 ml を午前中に採取した。うち34名については血中総テストステロンと遊離テストステロンの測定を目的として唾液採取と同時に採血を行った。

軽くうがいした後唾液を 3 ml 採取し、その後室温で5時間以上放置し、粘液を溶解した。なお唾液の採取はすべて午前中に行った。そして 20°C、3,000 rpm/分、10分間遠心分離した。上清 0.6 ml を取り、-20°C にて保存した。

抽出操作はこの上清を融解した後、エーテル 3.0 ml を加え、2分間振盪してから 4°C、2,000 rpm/分、2分間遠心分離して、ドライアイスにて水層を凍らし、エーテル層のみ取り出した後 40°C で乾固した。抽出所要時間は約1時間であった。

抽出終了後、テストステロンを含まない血清 0.2 ml を加え、radioimmunoassay (DPC トータルテストステロンキット 日本 DPC 社製) にて測定した。結局 0.6 ml の唾液からエーテル抽出後乾固し、0.2 ml

の血清で溶解したためこの時点で3倍濃縮したことになる。そこで radioimmunoassay でえられた測定値の1/3を算出し唾液中テストステロン値とした。

結 果

1. 基礎的検討 (Fig. 1)

今回使用したキットの最小標準血清は 200 pg/ml であり、唾液中テストステロンはこのレベル以下の可能性があるため、標準血清をさらに 50 pg/ml まで希釈し、標準曲線を新たに作成した。その結果は Fig. 1 に示すように、ほぼ直線であり、低い濃度部分も測定可能であることが示された。添加回収試験の結果は、80～90%と良好な結果であった。

2. 血中総および遊離テストステロン濃度と唾液中テストステロン濃度との関係 (Fig. 2, 3)

Fig. 2 に示すとおり血中総テストステロン濃度と唾液中テストステロン濃度との間に相関係数0.479 (p

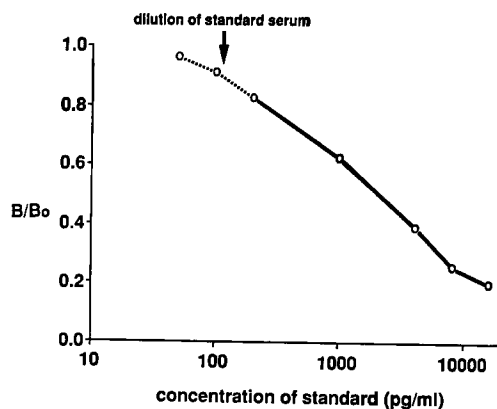


Fig. 1. Standard curve of total testosterone.

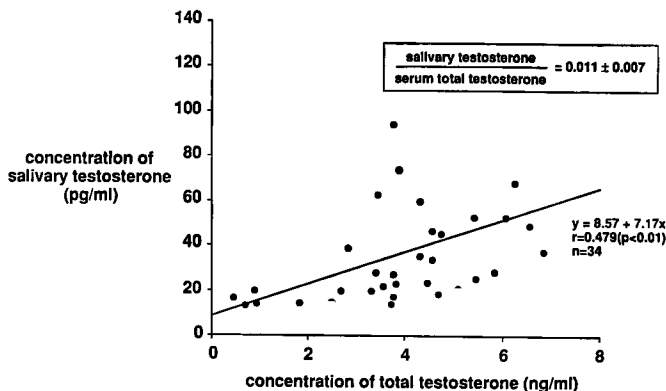


Fig. 2. Correlation between serum total testosterone and salivary testosterone.

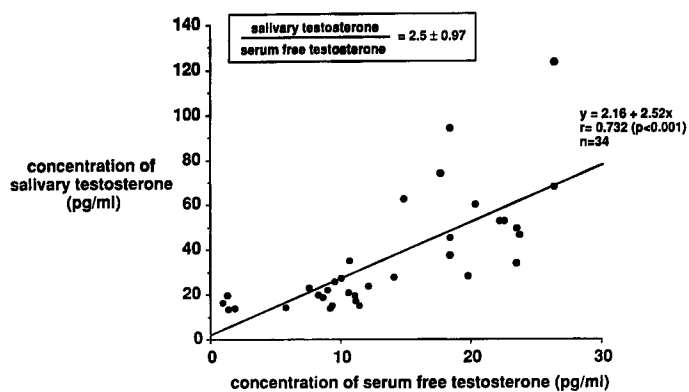


Fig. 3. Correlation between serum free testosterone and salivary testosterone.

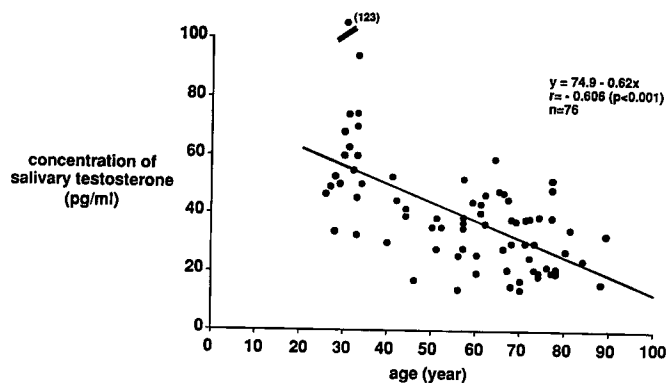


Fig. 4. Changes in salivary testosterone concentration with aging.

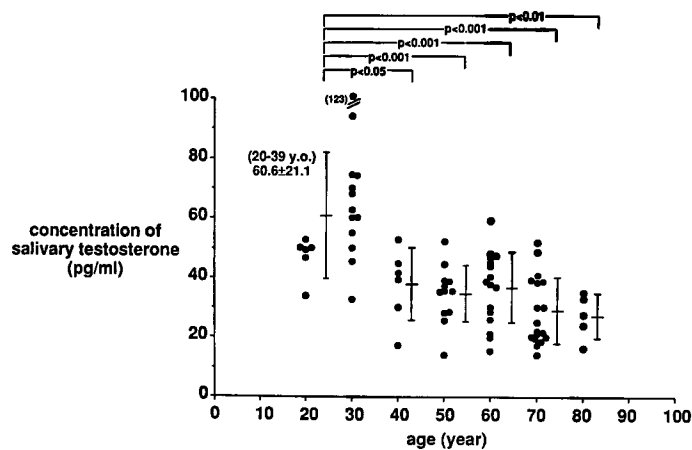


Fig. 5. Concentration of salivary testosterone in every decade.

<0.01)の有意な相関関係が認められた。しかし唾液中テストステロン濃度は血中総テストステロンの約100分の1にすぎなかった。一方、Fig. 3に示すとおり血中遊離テストステロンと唾液中テストステロンとの間には相関係数0.732 ($p<0.001$)と、総テストステロンより高い相関性が認められた。唾液中テストステロン濃度は血中遊離テストステロンの約2.5倍であり、血中総テストステロンよりも血中遊離テストステロン濃度をより反映していることが示された。

3. 加齢に伴う唾液中テストステロン濃度の変化 (Fig. 4, 5)

加齢に伴う唾液中テストステロン濃度の変化はFig. 4に示すとおり相関係数 -0.606 ($p<0.001$)と、加齢に伴い有意に低下した。その低下を年代別に検討するとFig. 5に示すごとく、20~30歳代 60.6 ± 21.1 (pg/ml, mean $\pm$ SD, 以下同様)、40歳代 37.6 ± 12.4 、50歳代 34.4 ± 9.7 、60歳代 36.4 ± 12.1 、70歳代 28.6 ± 11.4 、80歳代 27.1 ± 7.4 であり、20~30歳代に比し40歳代以降すべての年代で有意に低下した。

考 察

唾液中ステロイドホルモン測定は検体採取上の侵襲がないため、小児や繰り返す採取の場合に適している。さらに、Readらの報告では唾液中ホルモンの室温での安定性も優れ、常温で3日間、 4°C で1週間、 -20°C で9カ月保存できるとされている¹⁾。またJamesらは唾液中テストステロンは室温放置2週間後でも測定可能であると報告している²⁾。このような利点から唾液を用いてテストステロン、プロゲステロン、コルチゾール、17-OH-プロゲステロン等多くのステロイドホルモンが測定されている³⁾。

また唾液中ステロイドホルモンはほとんどが遊離型であることが認められており、精巣機能を評価する上で唾液中テストステロン測定の有用性が示唆されている。唾液中ホルモンは遊離型が主である理由としては、唾液中にSHBG (sex hormone binding globulin)の含有量が少なく、Hammondらの報告ではその割合が血中SHBGの1%以下であること⁴⁾、また遊離型テストステロンのみが血液から唾液中に浸出できること⁵⁾が考えられている。唾液中テストステロンに占める遊離型テストステロンの割合は約78%と報告されている⁶⁾。

今回唾液中に占める遊離型テストステロンの割合は検討していないが、唾液中テストステロンは血中総テストステロンの約100分の1、遊離テストステロンの2.5倍とそれぞれ従来報告されている30~77分の1、

1.6~2.6倍とほぼ同じ結果であり^{5,9,10)}、血中遊離テストステロン値に近い値であった。そして血中総および遊離テストステロンとの相関性を検討すると、総テストステロンとの間に $r=0.479$ 、遊離テストステロンとの間に $r=0.732$ と、総テストステロンより遊離テストステロンとの間の相関性が高い結果であったことも唾液中テストステロンが遊離テストステロン値を反映していることを示すものであった。

つぎに唾液中テストステロン測定上の問題として、その値が非常に低いため通常血液を測定するキットで測定可能か否かという問題がある。今回総テストステロン測定用キットの最低標準血清をさらに50 pg/mlに希釈し、新たに標準曲線を作成し、かなり低い濃度部分の測定も可能になった。その結果、現在市販されている血清総テストステロン測定用キットにて唾液中テストステロン測定が十分可能であることが認められた。

もう一つ唾液中テストステロン濃度測定の上で注意すべきことは唾液中テストステロンも血中と同様に日内変動があるため、唾液を採取する時間を一定にすることである。唾液中テストステロン濃度は血中と同様に早朝が最も高く、夜間に最も低下する¹¹⁾。今回の検討では午前中に唾液を採取した。

唾液中テストステロンを指標とした臨床的検討としては思春期テストステロン分泌の変化とその日内変動^{1,5,11-13)}、性腺機能低下症と前立腺癌の内分泌治療効果判定^{11,14,15)}に関して報告されている。加齢に伴う唾液中テストステロン濃度の変化については1982年にReadら¹⁶⁾の報告があり、その結果では20歳代 68.1 pg/ml、30歳代 58.8 pg/ml、40歳代 48.2 pg/ml、50歳代 43.3 pg/ml、60歳代 30.6 pg/ml、70歳以上は 28.9 pg/mlと今回とほぼ同じ値であった。40歳代からの有意な低下は血中遊離テストステロン濃度の加齢に伴う変化⁴⁾と同様であった。すなわち、唾液中テストステロン濃度はcommercial kitを用いても抽出時間を含め約5時間で正確に測定できることが確認され、今後の臨床応用が期待された。

結 語

1. Commercial kitを用いた唾液中テストステロンの測定は標準血清を50 pg/mlへ希釈し、標準曲線を作成することで十分可能となり、エーテル抽出操作を含め約5時間で行いえた。

2. 加齢に伴い唾液中テストステロン濃度が低下し、40代以降すべての年代で20~30代に比して有意に低下していた。これは血中遊離テストステロンの加齢に伴う変化と同様であった。

文 献

- 1) Read GF, Walker RF, Wilson DW, et al.: Steroid analysis in saliva for the assessment of endocrine function. *Ann NY Acad Sci* 595: 260-274, 1990
- 2) Dabbs JM: Salivary testosterone measurements: collecting, storing, and analyzing saliva samples. *Physiol Behav* 49: 815-817, 1991
- 3) Riad-Fahmy D, Read GF, Walker RF, et al.: Steroids in saliva for assessing endocrine function. *Endocr Rev* 3: 367-395, 1982
- 4) 伊藤直樹, 熊本悦明, 赤樫圭吾, ほか: 活性型 androgen としての血中遊離 testosterone の検討. *日内分泌会誌* 67: 23-32, 1991
- 5) 梅原次男, 熊本悦明, 三熊直人, ほか: 思春期に於ける唾液中 testosterone 値の検討. *日内分泌会誌* 67: 230-238, 1991
- 6) Hammond GL and Langley MS: Identification and measurement of sex hormone binding globulin (SHBG) and corticosteroid binding globulin (CGB) in human saliva. *Acta Endocrinol (Copenh)* 112: 603-608, 1986
- 7) Vittek J, L'Hommedieu DG, Gordon GG, et al.: Direct radioimmunoassay (RIA) of salivary testosterone: correlation with free and total serum testosterone. *Life Sci* 37: 711-716, 1985
- 8) Firyal S, Khan-Dawood, Jung K, et al.: Choeand Yusoff Dawood, M.: Salivary and plasma bound and free testosterone in men and women. *Am J Obstet Gynecol* 148: 441-445, 1984
- 9) Wang C, Plymate S, Nieschlag E, et al.: Salivary testosterone in man: Further evidence of a direct correlation with free serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 53: 1021-1024, 1981
- 10) Navarro MA, Juan L, Bonnín MR, et al.: Salivary testosterone: relationship to total and free testosterone in serum. *Clin Chem* 32: 231-232, 1986
- 11) Walker RF, Wilson DW, Read GF, et al.: Assessment of testicular function by the radioimmunoassay of testosterone in saliva. *Int J Androl* 3: 105-120, 1980
- 12) Ohzeki T, Manella B, Gübelin-De Campo C, et al.: Salivary testosterone concentration in prepubertal and pubertal males: comparison with total and free plasma testosterone. *Horm Res* 36: 235-237, 1991
- 13) Butler GE, Walker RF, Walker RV, et al.: Salivary testosterone levels and the progress of puberty in the normal boy. *Clin Endocrinol* 30: 587-596, 1989
- 14) Navarro MA and Villabona CM: Salivary testosterone: its application in the follow-up of hypo- and hyper-androgenic states. *J Clin Chem Clin Biochem* 25: 751-752, 1987
- 15) Navarro MA, Aguilo F, Villabona CM, et al.: Salivary testosterone in prostatic carcinoma. *Br J Urol* 63: 306-308, 1989
- 16) Read GF, Harper ME, Peeling WB, et al.: Changes in male salivary testosterone concentration with age. *Int J Androl* 4: 623-627, 1981

(Received on November 4, 1993)
(Accepted on April 28, 1994)