

唾液採樣法對唾液免疫球蛋白A、總蛋白質、澱粉酶和皮質固醇濃度的影響

李再立
國立東華大學
Michael Gleeson
英國羅浮堡大學

摘要

唾液含有抗體、賀爾蒙和蛋白質，所以被廣泛的運用於運動科學和免疫學等領域。然而至今仍少有比較不同唾液採樣法對生物標記濃度影響之研究。因此，本研究之目的在探討：1. 不同的唾液量對棉棒採樣法之採集效率、唾液免疫球蛋白A、總蛋白質、澱粉酶和皮質固醇濃度的影響。2. 不同之唾液採樣法對上述唾液生物標記濃度及唾液流量評估的影響。八位(年齡為 29.1 ± 2.9 歲；體重為 74.2 ± 1.3 公斤)和十二位(年齡為 28.3 ± 2.1 歲；體重為 74.6 ± 1.7 公斤)男性健康受試者分別志願參與實驗一和實驗二。實驗一：受試者滴淌未刺激唾液15 mL，這些唾液被分為4、3、2、1、0.7、0.4、0.2 mL和控制組以探討本文之目的。實驗二：受試者以平衡次序法完成三個兩分鐘的未刺激唾液採集以探討本文之目的。結果顯示：1. Salivette棉棒在唾液量介於2 - 3 mL時飽和，而此一範圍恰為收集唾液之最佳效率區。2. 唾液免疫球蛋白A、總蛋白質、澱粉酶和皮質固醇濃度明顯受到Salivette棉棒的影響，其影響程度與唾液分泌量無關且呈不規則變化。結論：棉棒採樣法會影響唾液免疫球蛋白A、唾液總蛋白質、唾液澱粉酶和唾液皮質固醇的測定結果；回顧以往採用此種棉棒採樣法之研究，其結果可能受到影響而須重新檢視。

關鍵詞：唾液採樣法、唾液免疫球蛋白A、總蛋白質、澱粉酶、皮質固醇



壹、緒 論

唾液為無色液體，密度約在 $1.002 - 1.012 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之間，由水（佔總重量之99%以上）和少量無機及有機物構成。人體的唾液腺每天分泌約750 mL的唾液，相當於每分鐘分泌0.5 mL，其中65%來自頰下腺（submandibular glands）、23%來自腮腺（parotid glands）、4%來自舌下腺（sublingual glands）及8%來自其它小黏液腺（minor mucous glands）（Crawford, Taubman, & Smith, 1975）。

唾液免疫球蛋白A（salivary immunoglobulin A）是主要的分泌性免疫球蛋白A（secretory immunoglobulin A），且已被視為抵禦因抗原移植（colonization by antigens）而產生之上呼吸道感染（upper respiratory tract infection）的第一防線，唾液免疫球蛋白A可以抑制病毒和細菌的附著（attachment）與複製（replication）（Mackinnon 等, 1993）。許多研究結果顯示在高強度耐力性運動期間和運動後，唾液免疫球蛋白A的分泌會急性減少，而且這個抑制現象會在運動後持續至少一個小時。運動對唾液免疫球蛋白A分泌的抑制或許會造成空窗期效應（open window effect）（Mackinnon, Ginn, & Seymour, 1993），而減損口腔抵禦病菌的能力，使運動員在激烈運動訓練期間或訓練後，比一般人易於罹患上呼吸道疾病（Gleeson 等, 1995; McDowell Hughes, Hughes, Housh & Jondson, 1992; Nieman 等, 2002）。

唾液診斷法被廣泛的運用於運動科學、免疫學、內分泌學、牙科、內科、兒科、病理學和心理學，因為在唾液中可以偵測到許多的抗體、賀爾蒙、藥物和蛋白質，而且是種安全便利、實用且非侵體性的採樣法（Rantonen & Meurman, 2000）。一些學者認為唾液中之皮質固醇（cortisol）濃度是腎上腺皮質對運動反應很好的指標，因為它和血漿游離皮質固醇（plasma free cortisol）濃度有顯著相關且不受唾液流量變化的影響（Rantonen 等, 2000）；但至今仍不確知其濃度是否會受到採樣方法的影響。

先前有關唾液生物標記（biomarkers）變化之研究，研究者大都採用棉棒採樣法（cotton-based swab collection method）收集樣本以供分析人體於承受生理或心理壓力情境時，唾液生物標記的變化情形。其採集方法大致為：於吞嚥唾液後，將棉棒置於舌下二分鐘以吸收口腔腺體分泌之唾液，取出後冰凍於 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 至 $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 中；分析當日，於充分解凍後，將棉棒置入離心機中以 1500g 離心10至15分鐘，以取得唾液樣本（Bishop 等, 2000; Blannin 等, 1998; Hucklebridge Clow, & Evans, 1998; Shirtcliff Grander, Schwartz, & Curran, 2001）。棉棒採樣法雖然相當的便利和實用，但卻少有研究去探討棉棒本身或採樣流程是否會影響唾液中各種生物標記的濃度。因此，本研究之目的在探討：

- 一、不同的唾液量對棉棒採樣法之採集效率、唾液免疫球蛋白A、唾液總蛋白質（salivary total protein）、唾液澱粉酶（salivary amylase）和唾液皮質固醇濃度的影響。
- 二、不同之唾液採樣法對唾液免疫球蛋白A、唾液總蛋白質、唾液澱粉酶和唾液皮質固醇

濃度及唾液流量評估的影響。

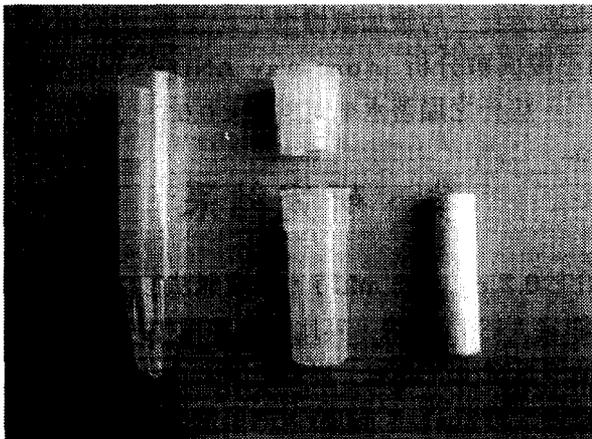
貳、研究方法

一、受試者

八位（年齡為 29.1 ± 2.9 歲；體重為 74.2 ± 1.3 公斤）和十二位（年齡為 28.3 ± 2.1 歲；體重為 74.6 ± 1.7 公斤）男性健康受試者分別志願參與實驗一和實驗二。每一位受試者在實驗前皆被詳細解說實驗目的和流程，並填妥同意書；此外受試者亦被要求在實驗前兩天停止激烈運動，並在前一天停止服用任何藥物和攝取酒精。

二、實驗流程和唾液採集

實驗一：實驗前先將Salivette（Sarstedt, Germany; 圖一）吸收棉棒、離心管及Bijou瓶子（含量7 mL）標號和稱重。受試者在一夜禁食後，於早上九點到達生化實驗室，並在喝下200 mL的水後10分鐘開始滴淌（dribble）未刺激（unstimulated）的唾液進入Universal Tube 直到半滿（約15 mL）。然後這些唾液被分為4、3、2、1、0.7、0.4和0.2 mL並置入事先標號的Bijou瓶子中，剩餘的唾液（約3 mL）就倒入另一瓶中，標為控制組。吸收棉棒接著被放入除控制組外的每一個裝有唾液的Bijou瓶中，放在震搖器（shaker）上以500 rpm 混合2分鐘。混合後，用夾子將吸收棉棒移入Salivette 離心管中在 18°C 及1500 g下離心10分鐘。離心後，每一吸收棉棒、Salivette 離心管和Bijou瓶都再次被稱重。唾液樣本被貯存冷凍在 -20°C 直到分析當日。



圖一 Salivette 包含吸收棉棒（直徑約一公分，長度約四公分；右），底部穿孔的塑膠容器（中），和離心管（左）

實驗二：實驗前先將Salivette (Sarstedt, Germany; 圖一) 吸收棉棒、離心管及Bijou 瓶子 (含量7 mL) 標號和稱重。受試者在四小時禁食後，於中午一點到達生化實驗室。受試者在每次採樣前五分鐘喝下150 mL的水，並在開始採樣前吞嚥口中唾液，然後以平衡次序法完成三個兩分鐘的未刺激唾液採集；其中兩個為置放Salivette 吸收棉棒於舌下 (標為SC和SF)，另一個為滴淌唾液進入離心管 (標為DB)。DB樣本在被稱重以計算唾液流量後貯存在 -20°C ；SC立即在 18°C 及1500 g下離心10分鐘，然後稱量離心管和吸收棉棒的重量後貯存在 -20°C ；SF則立即貯存在 -20°C ，直到分析當日於室溫下解凍100分鐘後，在 18°C 及1500 g下離心10分鐘，然後稱量離心管和吸收棉棒的重量。

三、分析方法

每分鐘唾液流量為離心後獲得之唾液量加上殘留在吸收棉棒中之唾液量，除以收集時間。唾液的密度假設為 $1.0\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Chicharro et al., 1998)。唾液免疫球蛋白A濃度測定採三明治免疫螢光酵素法 (sandwich-ELISA method)，類似於Gomez 等人 (1991) 所描述。唾液總蛋白質濃度則使用牛血清蛋白 (bovine serum albumin; Sigma, Poole, UK) 作為標準液 (濃度範圍為 $0 - 1000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)，蛋白質染色試劑則為Coomassie blue (Micro Protein Kit, No. 610-A, Sigma)，測量程序類似於 Bradford (1976) 所陳述。唾液澱粉酶之測量方法則如 Walsh 等人 (1999) 所用。唾液皮質固醇濃度測定是使用ELISA kit (SLV-2930, DRG, Germany)，其程序如<http://www.drg-diagnostics.de/text/speichel.htm> 所述。

四、統計方法

本文、圖和表格中之數據為平均數加減標準平均誤差 (Mean \pm S.E.M.)。統計法為受試者內重複量數單因子變異數分析 (one-way ANOVA) 和受試者內t-考驗 (paired samples Student's t-test)。統計之顯著水準定為 $P < 0.05$ 。

參、研究結果

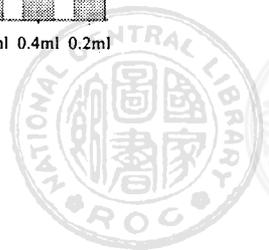
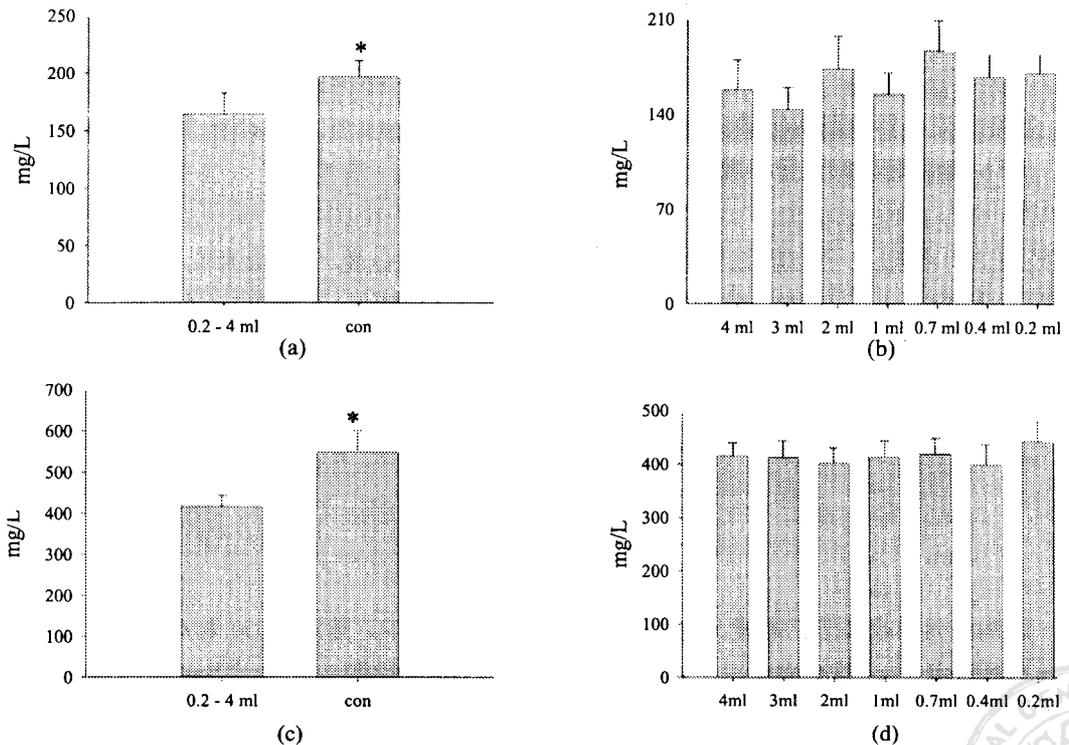
實驗一：當唾液量介於0.2 mL 至2 mL時，唾液無法被Salivette 棉棒吸收的比例相當的低 (約1%)，但當唾液量大於3 mL時，其比例急速增加 (表一)。唾液在離心後未能自棉棒釋出的百分比隨著唾液量減少而增加；從表一資料中可獲知Salivette 棉棒對唾液有相當好的吸收力，但當唾液量大於2 mL-3 mL時，即呈飽和狀態；而這個範圍亦恰為收集唾液之最佳效率區。

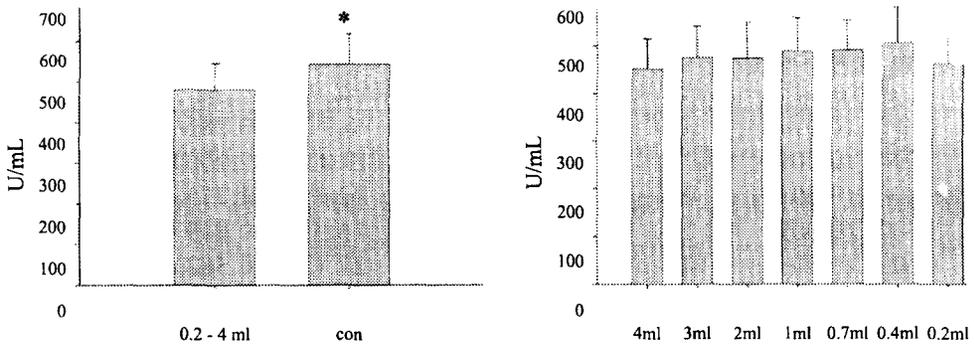


表一 Salivette 棉棒對唾液收集的效率

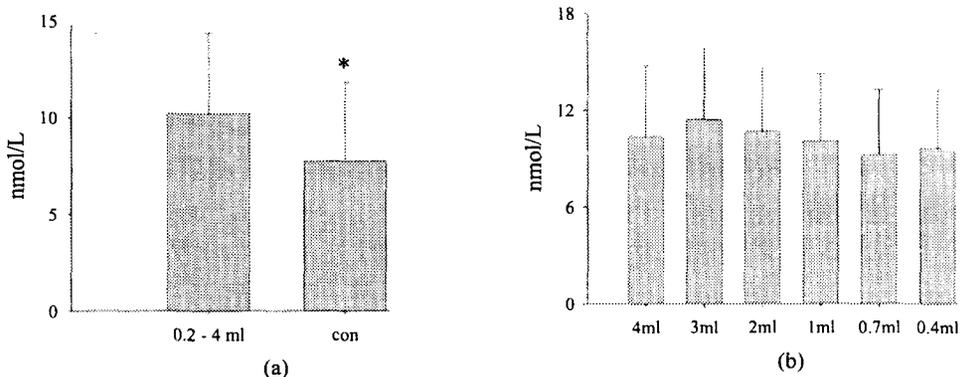
唾液量	未被棉棒吸收之唾液		離心後未自棉棒釋出之唾液		獲致以為分析之唾液	
	量 (mL)	百分比 (%)	量 (mL)	百分比 (%)	量 (mL)	百分比 (%)
4 mL	0.430 (0.074)	10.7	0.277 (0.025)	6.9	3.286 (0.076)	82.1
3 mL	0.044 (0.009)	1.5	0.269 (0.009)	9.0	2.706 (0.012)	90.2
2 mL	0.007 (0.001)	0.4	0.242 (0.011)	12.1	1.775 (0.010)	88.7
1 mL	0.004 (0.001)	0.4	0.163 (0.009)	16.3	0.849 (0.004)	84.9
0.7 mL	0.004 (0.001)	0.6	0.148 (0.008)	21.1	0.582 (0.006)	83.1
0.4 mL	0.003 (0.001)	0.8	0.090 (0.014)	22.3	0.309 (0.006)	77.2
0.2 mL	0.002 (0.001)	1.1	0.091 (0.007)	45.5	0.127 (0.006)	63.4

唾液免疫球蛋白A、唾液總蛋白質、唾液澱粉酶和唾液皮質固醇的濃度在接觸 Salivette 棉棒後顯著的受到影響 (圖二、三)。控制組之唾液免疫球蛋白A濃度 ($197 \pm 14 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 顯著的高於其它接觸過棉棒之各組的平均濃度 ($165 \pm 18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) ; 同樣的趨勢亦發生在唾液總蛋白質濃度 (549 ± 53 vs $417 \pm 27 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和唾液澱粉酶活性 (543 ± 75 vs $479 \pm 66 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$) 上; 但是唾液皮質固醇濃度的變化趨勢卻反之, 控制組的濃度 ($7.7 \pm 4.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 明顯低於其他各組之平均值 ($10.2 \pm 4.2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。此外, 接觸過棉棒之各組唾液中之免疫球蛋白A、總蛋白質、澱粉酶和皮質固醇的濃度並無顯著差異存在, 且呈不規律變化。



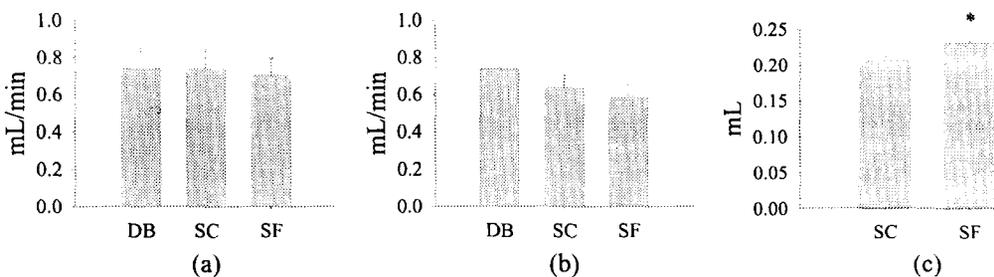


圖二 控制組之唾液免疫球蛋白 A (a)、總蛋白質 (b) 和澱粉酶 (c) 濃度顯著高於其它各組之平均值 (* $P < 0.05$)，但 0.2 - 4 mL 各組間之唾液免疫球蛋白 A (b)、總蛋白質 (d) 和澱粉酶 (f) 濃度無顯著差異且呈不規律改變。



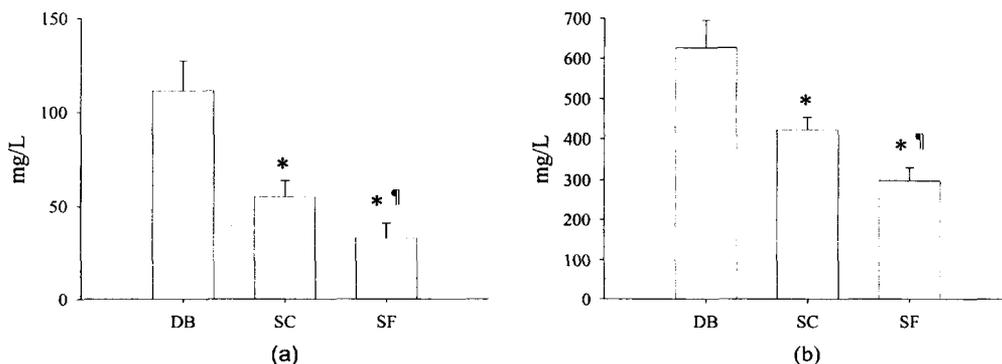
圖三 控制組之皮質固醇濃度顯著低於其它各組之平均值 (圖 a; * $P < 0.05$)，但 0.2 - 4 mL 各組間 (圖 b) 無顯著差異且呈不規律改變。

實驗二：各組之平均唾液流量未有差異存在；經離心後，SF組未從棉棒中釋出之唾液量顯著大於SC組 (0.232 ± 0.009 vs 0.206 ± 0.007 mL) (圖四)。



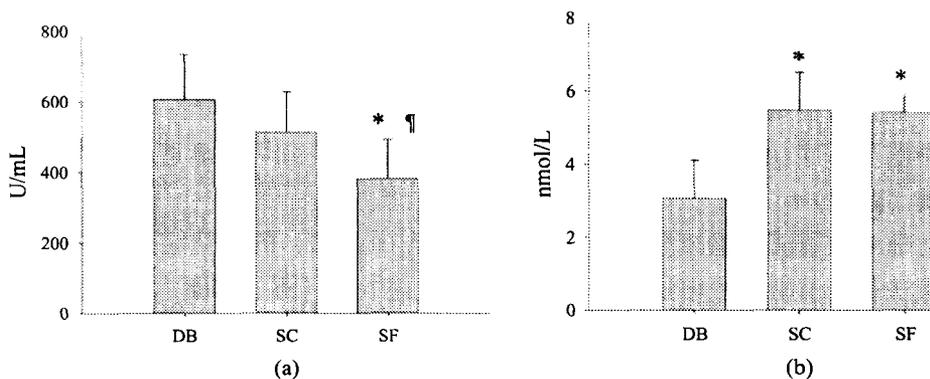
圖四 滴淌和棉棒收集法之唾液流量比較：包括殘留在棉棒中之唾液量 (a) 和排除殘留在棉棒中之唾液量 (b)；暨經離心後，殘留在棉棒中之唾液量之比較 (c)。SC和SF間有顯著差異 (* $P < 0.05$)。SF 樣本貯存於 -20°C 計 9 ± 1.1 天；貯存天數和殘留量之間沒有顯著相關存在。

在實驗二中，唾液免疫球蛋白A、唾液總蛋白質、唾液澱粉酶和唾液皮質固醇的濃度同樣受到Salivette 棉棒顯著的影響。採用DB收集法之唾液免疫球蛋白A濃度 ($111.1 \pm 16.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 顯著的高於SC ($55.1 \pm 8.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 SF ($33.1 \pm 7.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)；而且SC亦高於SF；總蛋白質濃度亦有類似的變化，採用DB收集法之總蛋白質濃度 ($627 \pm 68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 顯著的高於SC ($423 \pm 31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 SF ($298 \pm 33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)；此外，SC亦顯著高於SF (圖五)。



圖五 唾液免疫球蛋白A (a) 和唾液總蛋白質 (b) 之濃度變化。DB收集法之唾液免疫球蛋白A和唾液總蛋白質濃度顯著高於SC和SF收集法 (* $P < 0.05$)，而且SC收集法亦高於SF收集法 ($^{\#}P < 0.05$)。

採用DB收集法之唾液澱粉酶活性 ($605 \pm 128 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$) 同樣顯著高於SC ($512 \pm 116 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和 SF ($382 \pm 110 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$)；但採用DB收集法之唾液皮質固醇濃度 ($3.1 \pm 1.0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 卻顯著低於SC ($5.5 \pm 1.0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 SF ($5.4 \pm 0.6 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) (圖六)。



圖六 唾液澱粉酶活性 (a) 和唾液皮質固醇濃度 (b) 之變化。DB收集法之唾液澱粉酶活性顯著高於SF收集法 (* $P < 0.05$)，SC收集法亦高於SF收集法 ($^{\#}P < 0.05$)。DB收集法之唾液皮質固醇濃度顯著低於SC收集法和SF收集法 (* $P < 0.05$)。

肆、討 論

唾液流量對口部健康的重要性在於沖刷微生物和它們的產物進入腸胃道，且持續的供應免疫和非免疫因子進入口腔 (Tunovuo, 1998)。唾液中之有機成份 (salivary organic constituents) 的相對濃度明顯受到唾液流量的影響，例如未受刺激之腮腺分泌液比受刺激之腮腺分泌液含有高於三倍濃度的免疫球蛋白A (Brandtzaeg, 1998)；被視為唾液腺腺胞功能 (acinar cell function) 的澱粉酶活性也受到唾液流量和總蛋白質濃度的影響 (Rantonen & Meurman, 2000)。

實驗一的結果 (表一) 顯示Salivette棉棒對唾液收集很有效率，特別是當唾液量介於1 mL-3 mL時。這個結果說明在未受刺激唾液流量為0.3-0.7 mL·min⁻¹的基礎上，四分鐘的採樣期也許較傳統二分鐘的採樣期有效率，因為較少的唾液量造成較高比例的唾液殘留，但當唾液量大於3 mL時，則棉棒會因飽和而無法再吸收。

實驗一和實驗二的結果也顯示在唾液接觸棉棒的二分鐘期間，造成唾液免疫球蛋白A、唾液總蛋白質和唾液澱粉酶濃度減少約百分之十五 (圖二)；這說明使用棉棒收集唾液樣本明顯地影響本研究分析之生物標記的濃度，例如棉棒在採樣期間和平均九天的冷凍貯存期分別吸收了51%和70%的免疫球蛋白A (圖五a)。這個結果和 Shirtcliff等人 (2001) 的研究結果類似，該研究結果顯示將Salivette棉棒貯存於 -80°C直到分析當天才離心取出唾液，其免疫球蛋白A濃度較用非棉棒採樣法之唾液樣本減少了72% (49 mg·L⁻¹ vs 177 mg·L⁻¹)。這兩個研究的結果證明棉棒確實吸收了大量的免疫球蛋白A。

本研究之結果發現棉棒採樣法亦顯著得減少了唾液總蛋白質濃度和唾液澱粉酶活性 (圖二c、二e、五b、六a)，但其機制仍不清楚。我們推測可能是因為免疫球蛋白A、澱粉酶和其它蛋白質附著並陷入棉花纖維空隙中 (Misra, Bisoyi, Khan, & Patel, 1991; Parslow, Stites, Terr, & Imhoden, 2001; Ramasubbu, Puloth, Luo, Brayer, & Levine, 1996; Shirtcliff 等, 2001)。至於實驗二比實驗一減少更多的免疫球蛋白A、總蛋白質和唾液澱粉酶，其原因可能來自接觸棉棒之時間；例如SC和SF的唾液都來自棉棒採樣法，但SF在離心前曾置於室溫下解凍100分鐘，因此我們推論較長的接觸時間可能漸進地增加棉棒對唾液成份的吸收 (圖四)。

本研究之唾液皮質固醇濃度變化和 Shirtcliff等人 (2001) 的研究結果不同，本研究顯示棉棒採樣法較滴淌採樣法增加唾液皮質固醇濃度達76% (圖三和圖六b)，但Shirtcliff等人之研究結果卻顯示減少20%。我們推測游離唾液皮質固醇濃度增加可能是因唾液中部分的水和蛋白質被棉花纖維吸收，造成附著於蛋白質之皮質固醇釋放出來；但這個假設仍待進一步研究證實。

唾液流量和組成測定的基礎在於準確的採樣流程，因此探討運動對口部免疫的影響之關鍵步驟應為採用標準的採樣程序和精準的採樣方法。本研究已經清楚證實Salivette棉棒

採樣法不是一個可靠的方法，因為棉花會吸收部分的唾液成份，且不會於離心時釋出；而且附著量之多寡與唾液分泌量無顯著相關且呈不規則變化（圖二b、d、f 和圖三b）。

激烈運動時，換氣頻率大幅度增加，且常會使用口部協助呼吸，因此從事運動研究時，研究者尚須考量如何減少蒸發（evaporation）對唾液採集的影響，而能獲致精準的唾液流量。在運動情境下，棉棒採樣法似乎較滴淌法實用；但本研究之結果卻又發現棉棒採樣法不是一個適宜的方法，因為它會影響唾液免疫球蛋白A、唾液總蛋白質、唾液澱粉酶和唾液皮質固醇的測定結果。建議或許可考慮使用類似於牙醫使用之抽吸設備（suction device）；因為曾有一研究指出採用抽吸採樣法並不會影響唾液免疫球蛋白A的濃度（Aufricht 等, 1992），當然此種方法在運動情境下是否合宜，仍須進一步研究證實。

伍、結 論

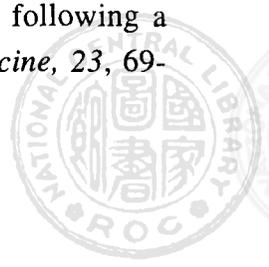
本文的研究結果發現棉棒採樣法不是一個理想的方法，因為它會影響唾液免疫球蛋白A、唾液總蛋白質、唾液澱粉酶和唾液皮質固醇的測定結果，而且附著量之多寡與唾液分泌量無顯著相關且呈不規則變化。回顧以往採用此種棉棒採樣法之研究，其結果可能受到影響而須重新檢視。

引用文獻

- Aufricht, C., Tenner, W., Salzer, H. R., Khoss, A. E., Wurst, E., & Herkner, K. (1992). Salivary IgA concentration is influenced by the saliva collection method. *European Journal of Chemistry and Clinical Biochemistry*, 30(2), 81-83.
- Bishop, N. C., Blannin, A. K., Walsh, N. P., Armstrong, E., Rickman, M., & Gleeson, M.(2000). Carbohydrate and fluid intake affect the saliva flow rate and IgA response to cycling. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(12), 2046-2051.
- Blannin, A. K., Robson, P. J., Walsh, N. P., Clark, A. M., Glennon, L., & Gleeson, M.(1998). The effect of exercising to exhaustion at different intensities on saliva immunoglobulin A, protein and electrolyte secretion. *International Journal of Sports Medicine*, 19, 547-552.
- Bradford, M. M.(1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.

Analytical Biochemistry, 72, 248-254.

- Brandtzaeg, P.(1998). Synthesis and secretion of human salivary immunoglobulins. In J. R. Garrett & J. Ekstrom & L. C. Anderson(Eds.), *Glandular Mechanisms of Salivary Secretion*(Vol. 10, pp. 167-199). London: Basel, Karger.
- Chicharro, J. L., Lucia, A., Perez, M., Vaquero, A. F., & Urena, R.(1998). Saliva composition and exercise. *Sports Medicine*, 26(1), 17-27.
- Crawford, J. M., Taubman, M. A., & Smith, D. J.(1975). Minor salivary glands as a major source of secretory immunoglobulin A in the human oral cavity. *Science*, 190(4220), 1206-1209.
- Gleeson, M., McDonald, R. L., Cripps, W. A., Pyne, D. B., Clancy, R. L., & Fricker, P. A.(1995). The effect on immunity of long-term intensive training in elite swimmers. *Clinical Experimental Immunology*, 102, 210-216.
- Gomez, F. E., Villegas, J., & Bourges, H.(1991). An enzyme-linked immunosorbent assay for human secretory immunoglobulin A in parotid saliva. *La Revista de Investigacion Clinica*, 43, 351-358.
- Hucklebridge, F., Clow, A., & Evans, P.(1998). The relationship between salivary secretory immunoglobulin A and cortisol: neuroendocrine response to awakening and the diurnal cycle. *International Journal of Psychophysiology*, 31, 69-76.
- Mackinnon, L. T., Ginn, E., & Seymour, G. J.(1993). Decreased salivary immunoglobulin A secretion rate after intense interval exercise in elite kayakers. *European Journal of Applied Physiology*, 67, 180-184.
- McDowell, S. L., Hughes, R. A., Hughes, R. J., Housh, T. J., & Johdson, G. O.(1992). The effect of exercise training on salivary immunoglobulin A and cortisol responses to maximal exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 13(8), 577-580.
- Misra, T., Bisoyi, D. K., Khan, M. N., & Patel, T.(1991). The effect of temperature on the fine structural characteristic of cotton fibre-a small-angle X-ray scattering investigation using correlation functions. *Journal of Applied Crystallization*, 24, 712-714.
- Nieman, D. C., Henson, D. A., Fagoaga, O. R., Utter, A. C., Vinci, D. M., Davis, I. M., & Nehlsen-Cannarella, S. L.(2002). Change in salivary IgA following a competitive marathon race. *International Journal of Sports Medicine*, 23, 69-75.



- Parslow, T. G., Stites, D. P., Terr, A. I., & Imboden, J. B.(2001). *Medical Immunology*(10th ed.). New York: McGraw-Hill Companies.
- Ramasubbu, N., Paloth, V., Luo, Y., Brayer, G. D., & Levine, M. L.(1996). Structure of human salivary α -Amylase at 1.6 resolution: implications for its role in the oral cavity. *Acta Crystallization, D52*, 435-446.
- Rantonen, P. J. F., & Meurman, J. H.(2000). Correlations between total protein, lysozyme, immunoglobulins, amylase, and albumin in stimulated whole saliva during daytime. *Acta Odontologica Scandinavica, 58*, 160-165.
- Rantonen, P. J. F., Penttila, I., Meurman, J. H., Savolainen, K., Narvanen, S., & Helenius, T.(2000). Growth hormone and cortisol in serum and saliva. *Acta Odontologica Scandinavica, 58*, 299-303.
- Shirtcliff, E. A., Grander, D. A., Schwartz, E., & Curran, M. J.(2001). Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology, 26*, 165-173.
- Tunovuo, J.(1998). Antimicrobial function of human saliva-how important is it for oral health? *Acta Odontologica Scandinavica, 56*, 250-256.
- Walsh, N. P., Blannin, A. K., Clark, A. M., Cook, L., Robson, P. J., & Gleeson, M.(1999). The effect of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and α -amylase. *Journal of Sports Sciences, 17*, 129-134.

投稿日期：92年 3月
接受日期：92年11月



The Effect of Different Saliva Collection Methods on Concentrations of Unstimulated Salivary Iga, Total Protein, Amylase, and Cortisol

Tzai-Li Jerry Li

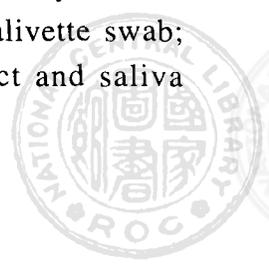
National Dong Hwa University, Taiwan;

Michael Gleeson

Loughborough University, UK

Abstract

There are many antibodies, hormones and proteins in saliva; therefore, saliva has been used for researches and diagnosis in exercise sciences and immunology. However, there have only been few studies inspecting if this collection method affects the concentrations of salivary biomarkers. Purpose: (1) determine the effects of different salivary volumes on collection efficiency and on the levels of salivary IgA (s-IgA), total protein, amylase, and cortisol using the Salivette swab collection method; and (2) investigate the influence of different methods of saliva collection on the levels of the above salivary biomarkers, and on the estimation of saliva flow rate. Methods: Eight healthy men (mean \pm SEM: age 29.1 ± 2.9 yr; body mass 74.2 ± 1.3 kg) and twelve healthy men (age 28.3 ± 2.1 yr; body mass 74.6 ± 1.7 kg) volunteered to participate in Study 1 and Study 2, respectively. In Study 1, subjects were asked to produce 15 mL of unstimulated saliva by dribbling into a tube over a 20-30 minute period. The samples then were divided into the following volumes: 4mL, 3mL, 2mL, 1mL, 0.7mL, 0.4mL, 0.2mL, and control (~3mL) for inspecting purpose (1). In Study 2, subjects completed three 2-minute unstimulated saliva sample collection periods in counterbalanced order for inspecting purpose (2). Results: (1) Salivette swab became saturated between the saliva volumes of 2 mL and 3 mL, and this range also produced the best efficiency for collecting saliva samples; (2) the levels of sIgA, s-total protein, s-amylase and s-cortisol, were all significantly affected by the presence of the Salivette swab; and there was no relation and regular changes between the effect and saliva



secretion volume. Conclusion: Our findings showed that the swab collection method significantly affects the results of salivary IgA, total protein, amylase and cortisol. With regard to previously reported studies in which swabs were used to collect saliva, our findings suggest that the results of such studies may be compromised and need to be reconsidered.

Key words: saliva collection methods, sIgA, s-total protein, s-amylase, and s-cortisol.

