

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：24403

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：15K16235

研究課題名(和文)女性のライフステージ別口腔細菌叢の状況と生活背景に関する研究

研究課題名(英文)A study on the situation and life background of oral microbial flora by female life stage

研究代表者

矢澤 彩香(Yazawa, Ayaka)

大阪府立大学・総合リハビリテーション学研究科・准教授

研究者番号：60340197

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：歯周病は歯の欠損要因となるだけでなく、循環器疾患や糖尿病などの全身疾患と関連することが報告されており、予防・治療の重要性が指摘されている。本研究では、妊娠・出産を迎える前の女子大学生、出産後育児中の女性とその子、高齢女性を対象に歯周病原細菌感染状況と生活習慣について調査した。歯周病原細菌感染状況は、世代ごとに違いが見られ、口腔細菌叢の構成にも特徴がみられた。これらのことから、それぞれの世代の背景を踏まえた上での対策が必要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Periodontal disease not only causes the loss of teeth but is also associated with systemic diseases, such as circulatory disease and diabetes. Three bacterial species, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, and *T. denticola*, known as the red complex, are the major causative agents of periodontitis and are highly associated with its severity. In this study, the periodontal pathogens were detected in the plaque samples from 48 female university students, 22 mothers who now raising their infants, and 33 elderly women, by using the species-specific polymerase chain reaction method. The detection rates of the above 3 species in the university students were lowest of the three groups. The results suggested importance of the oral care for women before reaching pregnancy. Furthermore, the composition of oral bacterial flora from university students was most diverse out of these three groups.

研究分野：公衆栄養学

キーワード：歯周病 女性 女子大学生

1. 研究開始当初の背景

我が国における歯の健康状態をみると、乳幼児期や学童期のう歯の減少や 80 歳になっても 20 本以上の歯を維持する 8020 運動の達成者の増加など、着実な改善が見られている。しかし、その一方で、60 歳を超えると急速に歯が減少している状況も見られ、この主たる原因は歯周病とされている。歯周病については、歯の喪失や口腔機能との関係のみならず、糖尿病や循環器疾患、周産期合併症などとの関連性も指摘されており、歯周病の予防や効果的な治療の提供は口腔の健康を保ち、食生活を支えるだけでなく、生活の質そのものにも影響を与えるものとなっている。

歯周病は細菌感染症である。しかし、歯周病原細菌が口腔内に定着しても、すぐに歯周病が発症するわけではない。歯周病原細菌に感染後、口腔衛生状態の悪化した状態などが続くと、歯周病原細菌が増加し、炎症をひきおこすようになる。女性は、ライフステージの変遷にともない、女性ホルモンの状態が変化する。この女性ホルモンの影響によって、口腔環境が変化すると言われており、口腔環境の変化は乳児・幼児期にはう蝕、妊娠期や高齢期には歯肉炎や歯周病を起こす可能性があると言われており、実際に出産・育児を迎える前の女性と出産後女性の口腔内状況を食習慣や生活習慣などとの関連性を含めて比較した例は極めて少ない状況である。

また、歯周病は主に成人で発症するため、歯周状態が悪化が見られない小児期には、歯周病原細菌はあまり検出されないと考えられていたが、近年、歯周病原細菌が比較的早い時期に親から子へ感染する可能性が報告された。しかし、このような親から子への感染に関する調査例はまだ少なく、感染時期や様式、条件などの詳細について明らかな見解は得られていない。

2. 研究の目的

本研究では、妊娠・出産経験のない女性、妊娠・出産後育児中の女性、閉経後の高齢女性を対象に、歯周病原細菌感染状況と、生活習慣について調査を行い、関連性について検討することを第 1 の目的とした。さらに、妊娠・出産後の女性の子の歯周病原細菌感染状況を調査し、母子間の関連性について検討することを第 2 の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 対象者

対象者は、妊娠・出産経験のない女子大学生(年齢 21.2 ± 1.0 歳)、妊娠・出産後育児中の女性(年齢 36.7 ± 3.6 歳)とその子(年齢 2.5 ± 0.8 歳)、閉経後の高齢女性(年齢 70.6 ± 4.5 歳)合計 125 名である。

(2) 生活習慣等に関する調査

対象者の体重、身長、喫煙習慣、口腔ケア

習慣(歯みがき状況)、歯周病に関する知識の状況等について自記式のアンケート調査を実施した。また、食事状況について、DHQ(自記式食事歴法質問票: self-administered diet history questionnaire)を用いた調査を行った。なお、出産後育児中の女性の子については、年齢が低く、これらの調査を実施することは困難であったため実施していない。

(3) 歯周病原細菌感染状況

対象者から歯みがきによりプラークおよび唾液を採取し、DNA 抽出キットを用いて細菌の核酸を抽出した。この溶液を試料として保存し、口腔内に存在する歯周病原細菌 8 菌種(*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans*, *C. rectus*)に特異的なプライマーを用いて、PCR をおこない、細菌の有無を判定した。定量には、繊維型 DNA チップを用いた。

(4) 次世代シーケンサーを用いた細菌叢解析

前項で抽出した DNA 溶液を解析用サンプルとし、すべての細菌種が持つ 16S リボソーム RNA 遺伝子配列のオリゴ DNA プライマーを用いて遺伝子を PCR 増幅し、次世代シーケンサーにより細菌叢の配列データを得た。取得した配列データから、属レベルで全体の細菌叢に占める割合を算出した。

4. 研究成果

(1) 生活習慣等に関する調査結果

対象者の BMI は、女子大学生が 19.7 ± 1.6 、出産後育児中の女性が 22.0 ± 4.1 、高齢女性が 22.5 ± 3.8 であった。喫煙に関しては、調査時点で喫煙習慣があった者は 1 名のみであったが、過去に喫煙習慣があった者が出産後育児中の女性の中で 3 名存在した。口腔ケアの一つである歯みがき習慣については、女子大学生、出産後育児中の女性、高齢女性とでは差はみられなかった。歯周病に関する知識については「歯周病が細菌感染症である」ことを知らない者は高齢女性ではおらず、女子大学生でも 91%、出産後育児中の女性では 68% が歯周病が細菌感染症であるということを知っていた。栄養素等摂取状況については、エネルギー調整済みの値で比較したところ、女子大学生と高齢女性とでは、高齢女性の方が摂取量が多い栄養素が存在した。

(2) 歯周病原細菌感染状況

女子大学生、出産後育児中の女性、高齢女性の歯周病原細菌感染率(%)を図 1 に示した。歯周病と関連する細菌は多数存在するが、本研究では、歯周病原細菌として知られている菌種のうち 8 菌種について検査を行った。8 菌種のうち、歯周病の病巣部位から最も高頻度で分離される 3 菌種(*P. gingivalis*, *T.*

forsythia, *T. denticola*) はレッドコンプレックスと呼ばれている。レッドコンプレックス 3 菌種については、女子大学生が、出産後育児中の女性および高齢女性に比較して 3 菌種とも感染率が低い状況であった。出産後育児中の女性と高齢女性を比較すると、*P. gingivalis* は、出産後育児中の女性より高齢女性の方が感染率が高い状況であったが、*T. forsythia*, *T. denticola* では出産後育児中女性と高齢女性の感染状況に差は見られなかった。これらのことから、妊娠・出産を迎える前の女子大学生の世代に対するケアの重要性が示唆された。また、高齢女性においては、歯周病原細菌に感染している者が多い状況であったことから、感染している可能性が高いことを前提としたケアが大切であると考えられた。

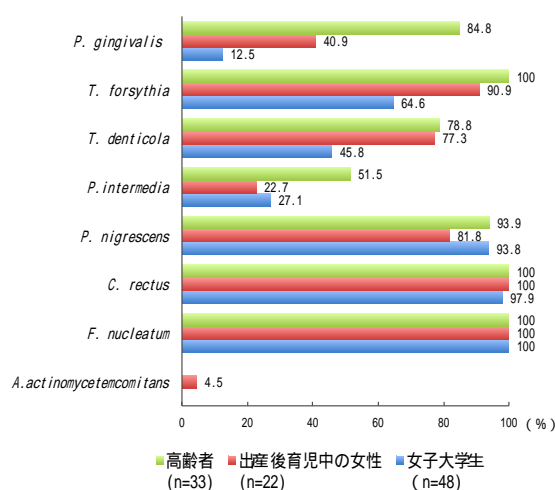


図 1. 歯周病原細菌感染率

(3) 次世代シーケンサーによる口腔細菌叢解析結果

各歯周病原細菌について、定量試験を実施したが、女子大学生、出産後育児中の女性、高齢女性とで算出した平均菌量では差がみられなかった。そこで、次世代シーケンサーを用いて、口腔細菌叢の構成について解析を行った。口腔細菌叢の構成を細菌の属レベルにおける出現状況でみたところ、世代ごとの違いがみられた。口腔における細菌の多様性については、女子大学生が最も多様性が高く、続いて高齢女性、出産後育児中の女性の順であった。

(4) 歯周病原細菌感染状況と生活習慣との関連性

女子大学生では、出産後育児中の女性、高齢女性に比較して、レッドコンプレックス 3 菌種の感染率が低い状況であったが、それぞれの世代における調査時点における歯みがき習慣には差はみられなかった。喫煙習慣については、歯周病との関連性がすでに明らかにされているが、本研究では、過去の喫煙状

況を含めても喫煙者が少なく、比較検討には至らなかった。女子大学生では高齢女性に比べ、歯周病原細菌への感染率が低い状況であったことから、女子大学生と高齢女性とで、栄養素摂取状況を比較したところ、高齢女性において摂取量が多い栄養素がみられた。しかし、その値は調査時点での数値であり、過去の状況を反映したものとは言い切れない。食との関連性を明らかにするためには、追跡調査や、過去における食習慣についてより詳細に調査をおこなう必要がある。

(5) 出産後育児中の女性とその子における歯周病原細菌感染状況

出産後育児中の女性とその子における歯周病原細菌感染率 (%) を図 2 に示した。*C. rectus*, *F. nucleatum* については、女子大学生、出産後育児中の女性、高齢女性の結果と同様に、感染率が極めて高く、これら 2 菌種については出生後早い時期に口腔内に定着している可能性が高いと考えられた。また、母子間で感染状況が一致する率が高い菌種がみられたことから、母から子への感染に関しては、今後、さまざまな観点から検討を行う必要性が示唆された。

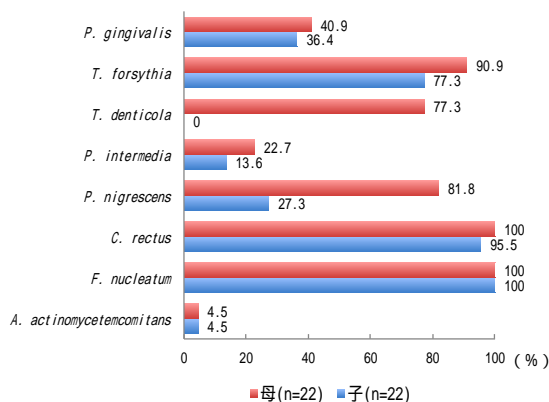


図 2. 出産後育児中の女性とその子における歯周病原細菌感染率

(6) まとめ

本研究では、歯周病原細菌感染状況から妊娠出産を迎える前の女子大学生の世代に対するケアの重要性が示唆された。女子大学生の世代では歯科の定期検診は義務付けられておらず、実際に歯科受診頻度が低いことも報告されている。今後は、そのような世代にどのようなアプローチが有効か、具体的な方法について検討していきたいと考えている。また、出産後育児中の女性の子においては、女子大学生より感染率が高い菌種があり、母子間の感染一致率が高い菌種もみられた。親から子への感染については、母親だけでなくその子を取りまく環境を幅広くみることも必要であり、今後の検討課題である。

なお、本研究では、対象者が限られており、

調査対象者の背景も限定的な条件となっている。また、実際の口腔内の臨床検査を実施していない。そのため、今後は対象者数を増やした検討、他のライフステージにおける検討、追跡調査、口腔内の臨床検査などを視野に入れ、研究を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

(1) Ayaka Yazawa, Miki Maetani, Ayumi Takemura, and Shigeki Kamitani, Association between the *Porphyromonas gingivalis fimA* type II genotype and the nutritional intake of elderly women. Journal of Life Science Research, 15, 1-7, 2017, 査読あり

〔学会発表〕(計5件)

(1) 酒井晴菜、岡野凌一、徳本勇人、矢澤彩香、大津巖生、神谷重樹 ヒト口腔細菌叢と細菌由来硫黄化合物の関連の検討、第91回日本細菌学会、2018

(2) 矢澤彩香、有田穂ノ香、河野楓、和田敏美、前谷実希、神谷重樹、女子大学生と高齢女性における歯周病原細菌保有状況と口腔ケアに関する検討、第71回日本栄養・食糧学会大会、2017

(3) 矢澤彩香、和田敏美、杉山由実、西川侑里、酒井晴菜、奥野祐子、前谷実希、品川英朗、神谷重樹、女性の歯周病原細菌保有率と生活習慣に関する検討、第56回日本栄養・食糧学会 近畿支部大会、2017

(4) 矢澤彩香、健康教室に参加した女性の歯周病菌保有状況と食生活に関する検討、第75回日本公衆衛生学会総会、2016

(5) 田口結衣、矢澤彩香、竹村有裕美、前谷実希、神谷重樹、健康教室に参加した女性についての歯周病原細菌と栄養摂取量の検討、第55回日本栄養・食糧学会近畿支部大会、2016

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢澤 彩香 (Yazawa Ayaka)
大阪府立大学大学院
総合リハビリテーション学研究科・准教授
研究者番号：60340197

(2) 研究協力者

神谷 重樹 (Kamitani Shigeki)
大阪府立大学大学院
総合リハビリテーション学研究科・教授
研究者番号：60379089
品川 英朗 (Shinagawa Hideo)
相愛大学
人間発達学部・教授
研究者番号：60551067