

令和元年6月13日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K20636

研究課題名(和文)口臭の原因物質産生に関連する細菌の探索-メタゲノム解析を用いて-

研究課題名(英文)Metagenomic analysis for oral bacteria related to halitosis

研究代表者

大城 暁子(OSHIRO, Akiko)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・プロジェクト助教

研究者番号：60644036

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：口臭の主な原因物質である揮発性の硫黄化合物(硫化水素、メチルメルカプタン、硫化ジメチル)は口腔内細菌が産生に関与している。しかし、それぞれのガスと細菌叢との関連はまだ明らかにはなっていない。本研究では、口臭測定の結果により、対象者を口臭あり群となし群の2群にわけた。口臭測定は、起床時条件にて口臭官能検査、ガスクロマトグラフィーおよびガスセンサー口臭測定器を用いて行った。メタゲノム解析により舌苔中の細菌属の組成を明らかにした。さらに、口臭あり群となし群の舌苔中の細菌の多様性の分析では、口臭あり群の方が口臭なし群に比較して、有意に高い値を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの患者が口臭の発生に関して、細菌が関与していることを知らず、口臭についての悩みをもっている現状がある。う蝕や歯周病に関する細菌学的研究は多数報告されているが、口臭に関する細菌学的研究は少ない。本研究では、対象者の口臭測定を行い、口臭あり群となし群に分け、両群の口腔内の細菌の組成を明らかにし、比較を行ってきた。口臭の有無と舌苔の細菌叢の関連を検討したところ、口臭あり群はなし群に比べ、細菌の多様性に富み、細菌の種類にも違いがあることが判明した。

研究成果の概要(英文)：The main causes of halitosis are volatile sulfur compounds (VSCs). There are many studies on the effects of tongue coating removal on halitosis, but few have evaluated bacteria in the tongue coating. This study investigated the bacteria in the tongue coating of halitosis and non-halitosis patients using metagenomic analysis. Metagenomic analysis of bacteria in the tongue coating revealed that there is a significant difference in bacterial composition and diversity between halitosis and non-halitosis patients.

研究分野：予防歯科学

キーワード：口臭 舌苔 口腔内細菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口臭の約9割は口の中に原因があった。口臭の主な原因は舌苔、歯周病、唾液分泌の減少である。特に舌苔に関しては、口臭に大きな影響を及ぼすことが分かっているが、いまだ詳細な研究はなされず、明らかになっていないことも多い。舌苔での細菌の活動は活発と考えられており、口腔内細菌が舌苔中の脱落上皮細胞や白血球を分解、口臭の主な原因物質である揮発性の硫黄化合物 (VSC: Volatile Sulfur Compounds) を産生する。また細菌の相互作用や揮発性の硫黄化合物の産生との関連などの解明など、多くの課題が残されている。ヒトの舌や舌苔付着のメカニズムの解析は難しく、動物実験での舌苔の観察などに関する実験も行われていないのが現状である。細菌と宿主との関係も重要である。ヒトの口腔内の細菌叢はそれぞれの宿主によって異なっている。その為、同じような口腔清掃活動や食生活をおくっていても、細菌叢は個々に違っていると考えられている。これまでは、培養可能な細菌について研究されてきたが、まだ明らかになっていない未知の細菌が多く存在する。加えて、細菌は単独で存在するのではなく、細菌と細菌が関わり合いながら、細菌叢を形成している。ヒトの口腔内の細菌叢を明らかにすることは、口腔内の環境を理解することにつながる。その為には舌苔における細菌・細菌叢の研究が急務と考える。

2. 研究の目的

う蝕、歯周病、口臭などの歯科疾患には口腔内細菌が関与している。口臭の主な原因物質である揮発性の硫黄化合物(硫化水素、メチルメルカプタン、硫化ジメチル)は口腔内細菌が産生に関与している。しかし、それぞれのガスと細菌叢との関連はまだ明らかにはなっていない。本研究は、メタゲノム解析を用いて、揮発性の硫黄化合物それぞれと既知、未知の口腔内細菌叢との関連を明らかにすることを目的に行う。

3. 研究の方法

対象者は、口臭外来を受診した患者40名(男性18名、女性22名、平均年齢46.1±15.8歳)である。口臭検査に関してはガスクロマトグラフィー口臭測定器、ガスセンサー口臭測定器、口臭官能検査を行った。口腔内診査、舌苔の付着の程度(広さ、厚さ、色)、唾液検査、細菌数検査などを行い、口臭症の診断を行った。揮発性の硫黄化合物(VSC)が規定値をこえている者を口臭あり群とし、こえていない者を口臭なし群とした。舌苔中の細菌のメタゲノム解析では、対象者の舌背中央部より、舌苔を採取し、直ちに80℃で保存した。その後、DNA抽出と精製を行い、16SrRNA遺伝子のV3-V4領域を増幅した。フォワードプライマーは、341F primer (5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3')を用いた。リバースプライマーは、806R primer (5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGACTACTACHVGGGTWTCTAAT-3')を用いて、解析を行った。口臭あり群となし群の間での細菌叢の解析結果の比較・検討を行う。

4. 研究成果

40名を対象に行ったメタゲノム解析の結果、舌苔中の細菌属の組成を明らかにした(図1)。舌苔中の細菌門レベルでの構成では、全ての対象者に、Actinobacteria、Bacteroidetes、Firmicutes、Fusobacteria、Proteobacteriaが検出された。さらに、口臭あり群となし群の細菌叢の多様性の比較では舌苔中の細菌の多様性の分析では、Chao-1 index および Shannon index において、口臭あり群の方が口臭なし群に比較して、有意に高い値を示した(図2、3)。

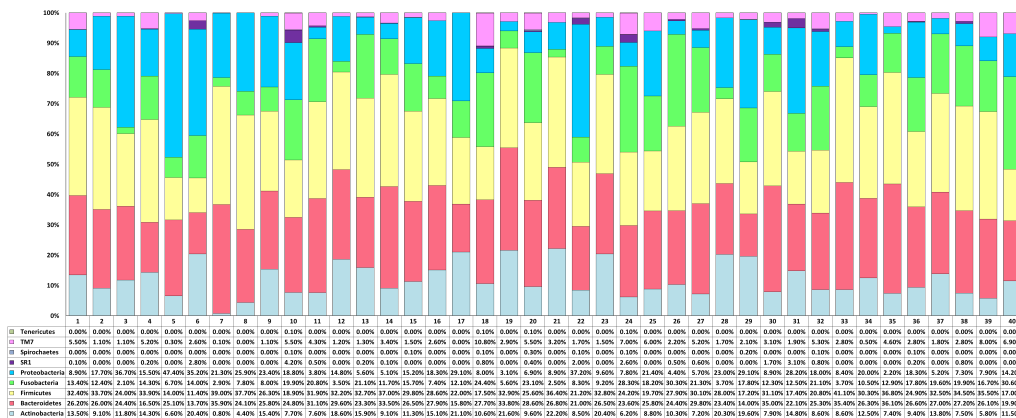


図1 被検者の細菌門構成比

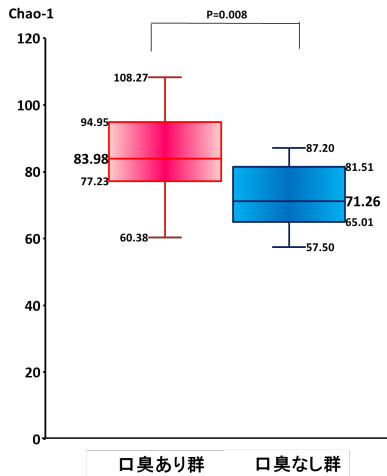


図2 口臭の有無と Chao-1 Index

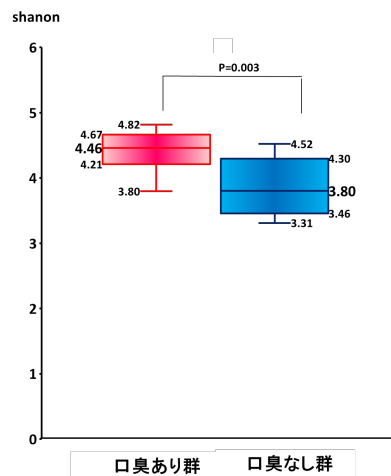


図3 口臭の有無と Shannon index

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計3件)

1. 大城暁子、齊藤智也、金澤利哉、財津崇、植野正之、川口陽子、舌苔中の細菌構成と口臭との関連の検討、第67回日本口腔衛生学会・総会、2018.5、北海道
2. 大城暁子、金澤利哉、財津崇、植野正之、川口陽子、口臭患者における口臭の有無と舌苔中の細菌数との関連について、第67回日本口腔衛生学会・総会、2017.5、山形
3. Akiko Oshiro, Yuka Shizuma, Toshiya Kanazawa, Mitsue Kamisawa, Sachiko Takehara, Takashi Zaitu, Masayuki Ueno, Yoko Kawaguchi, Relationship between oral malodor and the number of bacteria in tongue coating, A sian Academy of Preventive Dentistry, 口腔衛生学会(国際学会、2016.5、東京)

〔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:

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:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。