

令和 4 年 5 月 12 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17413

研究課題名(和文) 炎症性腸疾患における口腔内細菌叢由来の炎症誘導性細菌と細菌応答免疫細胞の同定

研究課題名(英文) Identification of inflammation-inducing bacteria from oral microbiota in inflammatory bowel disease

研究代表者

今井 仁 (IMAI, Jin)

東海大学・医学部・助教

研究者番号：40725363

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：炎症性腸疾患(IBD)の症例と健常人のコントロール症例に対して、唾液および糞便検体をメタゲノム解析し、共生細菌叢の組成について、対象群とコントロール群との差異を検討した。その結果、IBD患者の口腔内細菌叢は健常人と大きく異なることが示された。一方、糞便検体との比較では、口腔と糞便で共通する細菌の同定には至らなかった。さらに、歯周病の有無で2群に分類し臨床経過の比較、細菌叢の比較を行った。興味深いことに、歯周病を有するクローン病患者においては、抗TNF- $\alpha$ 抗体・免疫抑制剤を使用する頻度が高いことが見出された。細菌叢解析では、歯周病のありとなしでは、IBDの口腔内細菌叢には大幅な違いが観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、IBDのうち、クローン病においては歯周病の存在は、その細菌叢の乱れから波及し腸管病態へ強く影響を与えている可能性が示唆された。今後、さらなる研究が進むことで、クローン病の診療において口腔ケアの重要性の科学データが蓄積され、今後注目されていくと考えられる。また、口腔内由来の炎症誘導を起す細菌が新たな治療ターゲットとなりうると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We performed metagenomic analysis of saliva and fecal samples from patients with inflammatory bowel disease (IBD) and healthy controls to examine differences in the composition of microbiota between the subject and control groups. The results showed that the oral microbiota of IBD patients differed significantly from that of healthy controls. On the other hand, comparison with fecal samples did not lead to the identification of bacteria common to both oral and fecal samples. Furthermore, the patients were classified into two groups according to the presence or absence of periodontitis in IBD, the clinical course and microbiota were compared. Interestingly, Crohn's disease patients with periodontitis were found to use anti-TNF- $\alpha$  antibodies and immunosuppressive drugs more frequently. In the microbial analysis, substantial differences were observed in the oral microbiota of IBD with and without periodontitis.

研究分野：消化器内科

キーワード：炎症性腸疾患 クローン病 口腔内細菌 IgA 腸内細菌

### 1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患 (IBD) とは潰瘍性大腸炎 (UC) とクローン病 (CD) の 2 つの疾患の総称で、両疾患とも原因不明で根本的な治療法がなく、再燃と寛解を繰り返す難病である。IBD の病態は十分に解明されていないが、複数の環境要因と遺伝的要因が交錯する多因子疾患と考えられている。環境要因として、腸内細菌叢のバランスの破綻 (dysbiosis) が注目されているが、申請者が留学していた米国ミシガン大学鎌田らは、近年、無菌マウス内に IBD 患者の腸内細菌を定着させる手法を確立し、同マウスの腸管では炎症を惹起する遺伝子発現が亢進している事を報告している<sup>1</sup>。一方で、IBD 患者の口腔内細菌叢にも dysbiosis が存在し<sup>2</sup>、実際に腸管外合併症として口内炎の頻度も高い<sup>3</sup>。さらに、興味深いことに Gevers らは未治療の CD の腸内細菌から口腔内細菌の一部が検出されると報告しており<sup>4</sup>、口腔内環境と IBD の関連が注目されている。口腔の二大疾患である齲歯や歯周病の発症は口腔内細菌叢の dysbiosis によるものと考えられており、さらには、最近の研究から口腔内の dysbiosis は口腔の感染症のみならず、種々な全身疾患に関与していることが疫学調査や動物実験により明らかとなっている。しかしながら、口腔内の dysbiosis がどのように疾患発症とつながっているのか、そのメカニズムはまだ十分には解明されていない。では、IBD の中のどのような病態がこの口腔内細菌誘導の炎症と関連があるのか？ 以上の背景を踏まえ、IBD 患者の臨床情報と唾液・便の細菌データを比較し、口腔内細菌叢をはじめ口腔内環境が炎症性腸疾患の病態に及ぼす影響について、および無菌動物を用いたその基礎的な裏付けを検討する。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、IBD の病態に関与する口腔内細菌の同定ならびに口腔内細菌叢の dysbiosis が腸管炎症を惹起するメカニズムを、炎症性 T 細胞との関係から解明することである。申請者はすでにマウスを用いた先行研究において、口腔内炎症モデルマウスを用いてデキストラン硫酸誘導腸炎が増悪し、この際に口腔内と糞便より Enterobacteriaceae 菌種が増加し T 細胞主体の炎症を惹起することを示している。この知見をもとにして臨床データでの解析を進めていく。

### 3. 研究の方法

2018 年 4 月から 2019 年 3 月までに臨床研究に同意の得られた東海大学医学部付属八王子病院に通院する UC42 名、CD18 名および健常人 (HC)45 人に対し、口腔外科に受診し歯周病・齲歯を含む口腔内環境の診断を行い、唾液と糞便の採取を行った。加齢に伴う歯周病の影響を除外するため、適格年齢を 15 歳から 39 歳までとした。その後、症例は歯周病の有無に分け、前向きに 1 年間の臨床経過を評価した。唾液と糞便の細菌叢解析は米国ミシガン大学で 16s rRNA 解析を行った。また、獲得免疫能について、唾液・糞便検体中の IgA 結合細菌の割合を flow cytometry で評価した。

### 4. 研究成果

UC (42 人)、CD (18 人) と HC (45 人) を比較すると、CD でやや年齢が低い傾向にあった年齢であった。UC のうち歯周病群 (UC Perio+) と非歯周病群 (UC Perio-) では、重症度、ステロイド反応性、腸管外合併症、再燃、バイオ製剤・免疫抑制薬の使用には差は認めなかった。一方、CD のうち歯周病群 (CD Perio+) は非歯周病群 (CD Perio-) に対して、バイオ製剤・免疫抑制薬使用例が有意に多く認められた。重症度、バイオ製剤抵抗性には差は認めなかった。

1 年間の経過観察中に CD3 例が再燃したが、興味深いことにいずれも CD Perio+ 群であった(図 1)。

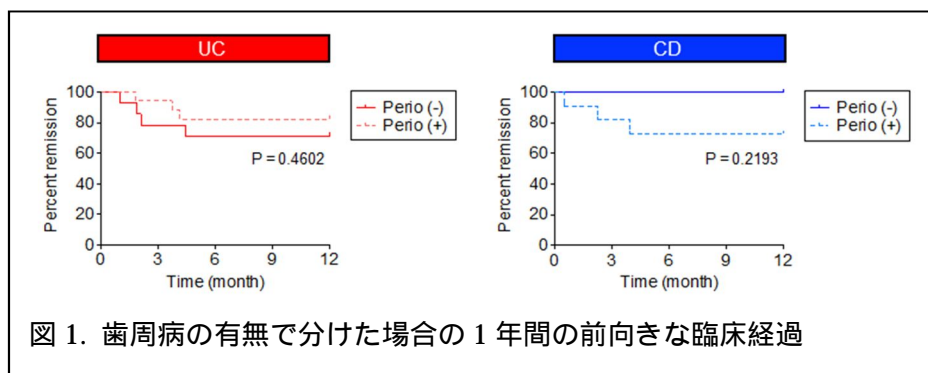


図 1. 歯周病の有無で分けた場合の 1 年間の前向きな臨床経過

唾液中細菌叢解析の結果、HC では歯周病の有無により大きな細菌叢の変化は認められなかった。一方で、CD では歯周病の有無で細菌叢に著明な変化があり、CD Perio+ 群において Enterobacteriaceae 科などの細菌が有意に上昇して来た (図 2-3)。最後に、獲得免疫能の違いをみた IgA 結合細菌の割合については、CD 全体では HC、UC に比し高値を示したが、CD での歯周病の有無では有意な差は見られなかった。

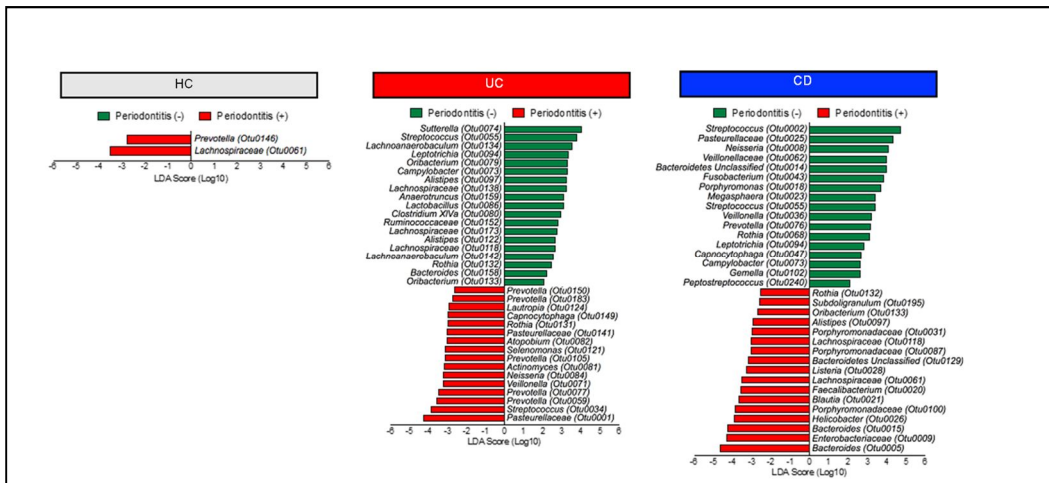


図 2. 歯周病の有無で分けた各群の唾液検体の細菌叢の違い

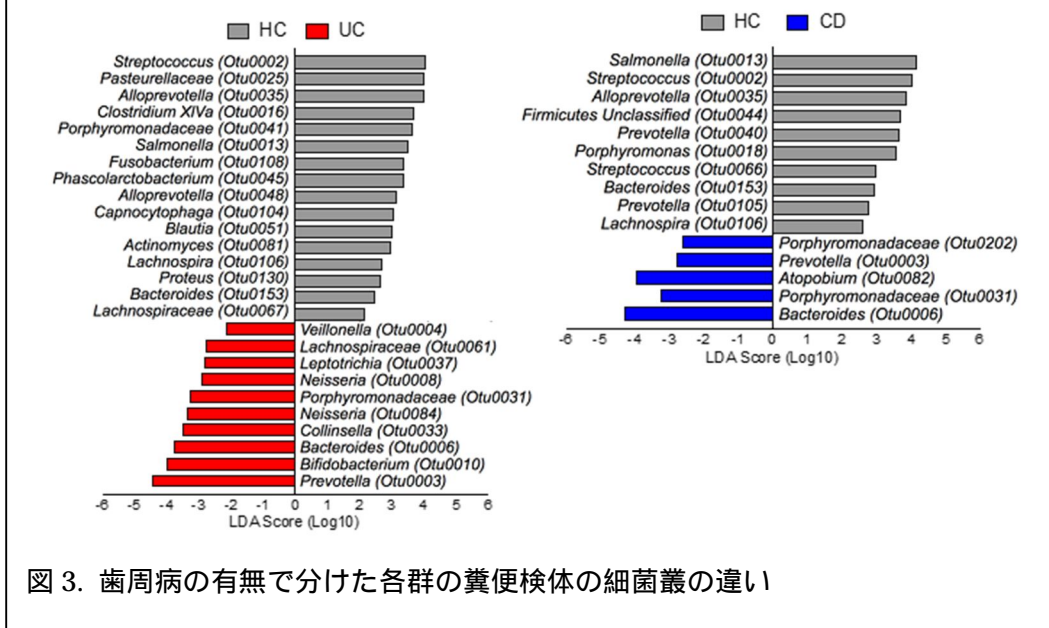


図 3. 歯周病の有無で分けた各群の糞便検体の細菌叢の違い

CDにおいて歯周病を有する場合、抗 TNF- 抗体、免疫抑制薬の使用が多いこと、そして再燃しやすい傾向が認められた。その一因として、歯周病に伴い口腔細菌叢の乱れがあることが示唆された。しかし、IgA による獲得免疫の評価では、CDの歯周病の有無で差は見られなかった。これらの知見により、口腔内環境の管理がCDの臨床経過に影響を与える可能性が示唆された。

参考文献

1. Nagao-Kitamoto H, Shreiner AB, Gilliland MG, et al. Functional Characterization of Inflammatory Bowel Disease-Associated Gut Dysbiosis in Gnotobiotic Mice. Cell Mol Gastroenterol Hepatol 2016;2:468-481.
2. Said HS, Suda W, Nakagome S, et al. Dysbiosis of salivary microbiota in inflammatory bowel disease and its association with oral immunological biomarkers. DNA Res 2014;21:15-25.
3. Morar PS, Faiz O, Warusavitarne J, et al. Systematic review with meta-analysis: endoscopic balloon dilatation for Crohn's disease strictures. Aliment Pharmacol Ther 2015;42:1137-48.

4. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, et al. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe* 2014;15:382-392.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sho Kitamoto, Hiroko Nagao-Kitamoto, Yizu Jiao, Merritt G Gilliland, Atsushi Hayashi, Jin Imai, Kohei Sugihara, Mao Miyoshi, Jennifer C Brazil, Peter Kuffa, Brett D Hill, Syed M Rizvi, Fei Wen, Shrinivas Bishu, Naohiro Inohara, Kathryn A Eaton, Asma Nusrat, Yu L Lei, William V Giannobile, Nobuhiko Kamada	4. 巻 182(2)
2. 論文標題 The Intermucosal Connection between the Mouth and Gut in Commensal Pathobiont-Driven Colitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 447-462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2020.05.048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Jin Imai, Takashi Yahata, Hitoshi Ichikawa, Abd Aziz Ibrahim, Masaki Yazawa, Hideaki Sumiyoshi, Yutaka Inagaki, Masashi Matsushima, Takayoshi Suzuki, Tetsuya Mine, Kiyoshi Ando, Toshio Miyata, Katsuto Hozumi	4. 巻 18(2)
2. 論文標題 Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 attenuates against intestinal fibrosis in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Intestinal Research	6. 最初と最後の頁 219-228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5217/ir.2019.00037.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imai J, Kitamoto S, Sugihara K, Nagao-Kitamoto H, Hayashi A, Morhardt TL, Kuffa P, Higgins PDR, Barnich N, Kamada N	4. 巻 12
2. 論文標題 Flagellin-mediated activation of IL-33-ST2 signaling by a pathobiont promotes intestinal fibrosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mucosal Immunology	6. 最初と最後の頁 632-643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41385-019-0138-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 今井 仁, 鎌田 信彦, 北本 祥, 市川 仁志, 高橋 美穂, 白井 孝之, 穂積 勝人, 鈴木 秀和
2. 発表標題 歯周病合併クローン病における口腔内・腸内細菌叢解析と臨床経過
3. 学会等名 GI WEEK 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井 仁, 鈴木 秀和
2. 発表標題 クローン病における接着性侵入性大腸菌 (AIEC) による腸管線維化誘導の検討
3. 学会等名 第39回サイトプロテクション研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井 仁, 鈴木 孝良, 鎌田 信彦
2. 発表標題 接着性侵入性大腸菌(AIEC)はIL-33/ST2シグナルを介し腸管線維化を誘導する
3. 学会等名 第27回日本消化器関連学会週間 JDDW
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 市川 仁志, 今井 仁, 金子 元基, 津田 真吾, 永田 順子, 白井 孝之, 高橋 美穂, 唐木田 一成, 高山 哲朗, 伊藤 裕幸, 小嶋 清一郎, 坂本 春生, 渡辺 勲史
2. 発表標題 炎症性腸疾患と口腔内環境との関連性について
3. 学会等名 第27回日本消化器関連学会週間 JDDW
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jin Imai, Sho Kitamoto, Hiroko Nagao-Kitamoto, Atsushi Hayashi, Kohei Sugihara, Tina L. Morhardt, Peter Kuffa, Peter D. R. Higgins, Nicolas Barnich, Nobuhiko Kamada
2. 発表標題 Adherent-invasive Escherichia coli colonization promotes intestinal fibrosis via activation of IL-33-ST2 signaling
3. 学会等名 DDW (Digestive Disease Week) 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 今井 仁, 穂積 勝人, 鈴木 秀和	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 5
3. 書名 医学のあゆみ	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------