

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19143

研究課題名(和文)高齢者における新たな肺炎予防法の検討

研究課題名(英文)Examination of new pneumonia prevention method in elderly people

研究代表者

西尾 健介(NISHIO, Kensuke)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：50780558

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文): *in vitro*の実験より、電解酸性機能水(FW)は、誤嚥性肺炎の原因菌である黄色ブドウ球菌・肺炎レンサ球菌・緑膿菌・カンジダアルビカンスに対して殺菌効果を示した。さらに、その殺菌機序を検討した結果、酸化ストレスのマーカーであるSuper Oxide Dismutaseの活性が上昇したため、FWの殺菌機序は酸化作用が関連している可能性が示唆された。FWの細胞障害性を検討した結果、一般的な含嗽剤と同等の細胞障害性であった。次に、有床義歯を装着した高齢者に対して、FWでの含嗽を1週間指示し、患者の唾液および舌背の細菌数の変化を確認した結果、多くの被験者で舌苔の細菌数の減少が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔ケアの第一選択はブラッシングであるが、臨床現場では、患者もしくは介護者が十分にブラッシングを行っていない場面が散見される。そこで我々は、簡便で効果的な口腔ケア方法として、FWによる含嗽に着目し、その効果を検討した。コロナウイルスの流行により、予定していた被験者数を大きく下回ったが、FWは、誤嚥性肺炎の原因菌とされる細菌に対して十分な殺菌効果をしめし、さらに、その細胞障害性は、従来の含嗽剤と比べても同程度であることから、FWを用いた含嗽は、高齢者の口腔ケア方法として有用な可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文): In *in vitro* study, no bacteria treated with FW, Listerine, or undiluted ConCool F formed colonies. However, the number of colony-forming units in bacteria treated with diluted ConCool F was equivalent to that of control, except for *C. albicans*. Superoxide dismutase activity peaked at a 50% concentration of FW, and was more than twice that of the control. A significant decrease in the number of colony-forming units was observed following 50% treatment. Since the peaks of the superoxide dismutase activity and the starting concentrations of the bactericidal effects coincided, the bactericidal effect of FW's might be related to their oxidative effects. Bacteria treated with FW had a higher a survival rate than the other two mouth rinses. Next, we instructed elderly patients with dentures to rinse their mouths with FW for one week and checked changes in bacterial counts in the patients' saliva and on the dorsum of the tongue, which showed a decrease in bacterial counts in many subjects.

研究分野：高齢歯科学

キーワード：電解酸性機能水 有床義歯 誤嚥性肺炎

## 1. 研究開始当初の背景

肺炎は我が国の死因第3位であり、年間約12万人の命を奪っている疾患である。特に加齢とともに死亡率が上昇することが判明しており、推測される今後の高齢化率の上昇からも、このままではさらに死者が増加することが予測される。また肺炎は健康寿命を損ねる主要な疾患であり、以前に発表された「国民の健康寿命が延伸する社会」の実現に向けた予防・健康管理の取り組みにおいて1つの項目に入っていることから、超高齢化社会を迎えている我が国では、肺炎に対する治療、特にその予防は国策となっている。

肺炎の中でも特に誤嚥性肺炎の発症と口腔内の清掃状態が関係することは既に報告されており、その予防において歯科が担う役割が大きい。さらに当講座では、就寝時に有床義歯を装着することが肺炎の罹患のリスクを2倍に上昇させることを報告し(Iinuma et al. J dent Res. 2015)、有床義歯を装着している高齢者は、さらに肺炎に罹患しやすい状況下で生活していることを突き止めた。高齢者の口腔衛生状態を維持することは重要であるが、臨床の現場において、高齢者の口腔内が十分に管理されていない場面が散見される。口腔ケアの第一選択がブラッシングであることに変わりはないが、高齢者や介護者によるブラッシングの難しさを痛感する場面は少なくない。このような背景から、ブラッシングと併用できる簡便で効果的な口腔ケア方法が期待されている。

## 2. 研究の目的

当講座では、これまでに高齢者にとって有用で簡便な新しい口腔ケア方法を模索してきた。申請者は本学病理学講座との共同研究で、電解酸性機能水(acid-electrolyzed functional water: FW)について様々なエビデンスを報告しており、FWを用いた口腔ケア法に着目している。FWは、食塩を専用の電解槽で電気分解し陽極に産生される、次亜塩素酸が主成分の水溶液であり、その安全性は食品添加物として認可されていることなど、各種試験で立証されている。さらに次亜塩素酸ナトリウムを超える強力かつ高スペクトルな殺菌力より多くの医療現場で実際に使用されている。しかし高齢者の口腔ケアとしての成果、さらに高齢者の口腔内諸機能にどのような影響を与えるかを報告した臨床研究は存在しない。FWの殺菌力および安全性は、高齢者の肺炎予防において有用性が高いと申請者は考え、本研究では、含嗽剤としてのFWの効果に着目し、FWによる含嗽が高齢者の口腔内の細菌叢および口腔内諸機能に与える影響を検討し、高齢者の口腔ケアにおけるFWの有用性を検討した。

## 3. 研究の方法

FWはこれまでに、様々な歯科臨床の場面でも活用されてきた。しかし、高齢者の含嗽剤としての効果を報告したものは存在しないため、本研究では、FWの含嗽効果を検証するべく、高齢被験者にFWでの含嗽を指示し、その効果を検討する計画を立てた。しかしコロナウイルスの影響により、臨床研究の実施が遅滞し、予定していた実施被験者数を下回ってしまった。そこで、FWの効果を多方面から解析するべくin-vitroの実験を行い、FWの含嗽剤としての有用性を検討した。

### (1) 誤嚥性肺炎原因菌に対するFWの殺菌効果、宿主細胞に与える影響(in-vitro)

各種肺炎原因菌に対する、FWの殺菌効果の検討

誤嚥性肺炎の主な原因細菌である黄色ブドウ球菌(FDA209P株)、肺炎レンサ球菌(6305株)、緑膿菌(JCM2776株)および*Candida albicans*(NUD202株)に対して、FW(三浦電子社製、pH2.2~2.7)で30秒間処理を行い、その後Brain Heart Infusion(BHI)寒天培地上で1晩培養し、形成コロニー数から生菌数を測定した。コントロールとしてPBS、さらに一般的に用いられている含嗽剤であるリステリン(ジョンソン・エンド・ジョンソン社製)、コンクール(ウエルテック株式会社製)を用いた。なおコンクールの使用濃度はメーカー推奨使用濃度に希釈したものと原液を用いた。

#### FW処理による黄色ブドウ球菌の殺菌機序の確認

FWの殺菌効果は酸化力により発揮されると報告されている。そこで、被験菌の黄色ブドウ球菌を、コントロールとして精製水、また精製水で濃度を10~70%に調整したFWで30秒間処理した後、細胞内の酸化ストレスの指標であるSuper Oxide Dismutase(SOD)量を測定した。さらに同条件で刺激した際の黄色ブドウ球菌の生菌数を前項と同様に行った。

#### FWの宿主細胞への影響

FWの口腔内組織細胞への影響を確認するために、2種類の培養細胞(HSC-3株、HeLa株)を用いて30秒間刺激後の細胞生存率をXTTアッセイで調べた。FWの刺激時間は30秒とし、なお、刺激はFW、リステリンおよびコンクール(原液)を用いた。

### (2) FWによる含嗽効果の検討

日本大学歯学部附属歯科病院・総義歯補綴科を受診中で、症状が安定している有床義歯装着し患者(40名)に対してFW(三浦電子社製、pH2.2~2.7)での含嗽を1週間(1日3回:毎食後)指示し、含嗽効果を検討した。コントロールは水道水とし、はじめに水道水による同一条件での含嗽を指示し、その後、FWでの含嗽を実施した。含嗽後の各種評価項目は、唾液分泌量(1分間吐唾法)、舌苔・唾液中の細菌量さらにFWでの含嗽による使用感をインタビューした。

## 4. 研究成果

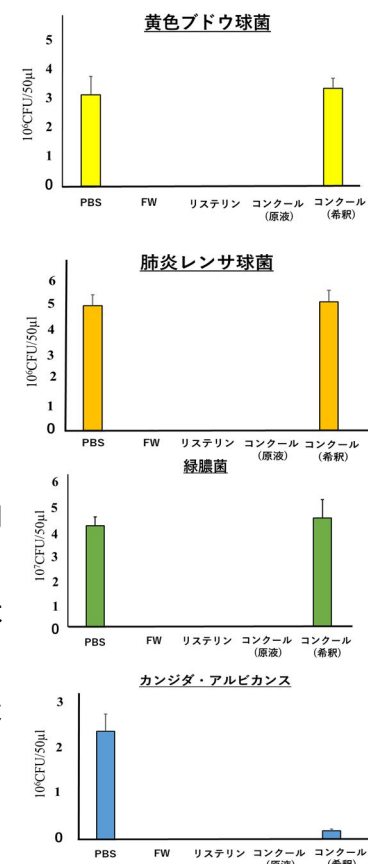
### (1) 誤嚥性肺炎原因菌に対するFWの殺菌効果、宿主細胞に与える影響(in-vitro)

各菌をFWで処理した結果、全ての被験菌でコロニー形成は認めらなかった(図1)。

次に、FW処理による黄色ブドウ球菌細胞内のSOD量を測定した。その結果、50%FWの処理時にSOD量がピークとなり、コントロールと比較して2倍以上に増加した。一方、同処理条件で細菌の形成コロニー数を確認した結果、50%の刺激より著しい減少が認められた。SOD量のピークと殺菌効果の起始濃度が一致していることから、FWの殺菌作用には、従来の報告と同様に、酸化作用が関連している可能性が推察された。

最後に、FWの刺激による細胞障害性を確認した結果、FWはリステリンやコンクールと同等もしくはわずかに生存率が高いことが分かった。以上の結果より、FWは肺炎原因菌に対して殺菌効果を有すること、その殺菌作用には酸化作用が関わっている可能性、そして一般の含嗽剤と比較して同程度の刺激性であることがわかった(図2)。

図1: 各種肺炎原因菌に対する、FWの殺菌効果



## (2) FW による含嗽効果の検討

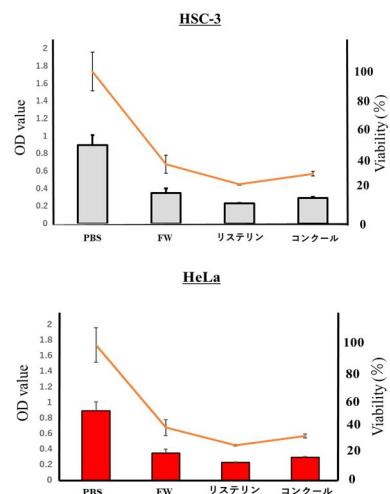
当初の予定では、100 名の高齢被験者に対して、FW での含嗽を実施する予定であったが、実際の実施は 40 名であった。初めに含嗽による口腔内細菌数の変化を舌苔および唾液中の細菌数に着目して解析した。解析にはパナソニックヘルスケア社製細菌カウンタを用い、定量化されたサンプル内の総細菌数で比較した。唾液については被験者間での差が大きく、有意な減少は認めなかったが、舌苔の細菌量は 40 名中 33 名で減少し、有意な減少を認めた。次に誤嚥性肺炎主要原因菌（黄色ブドウ球菌、肺炎レンサ球菌、緑膿菌および *Candida albicans*）の数の変化を real-time PCR 法で確認したが、減少傾向を示したが、全ての菌種で有意な変化は認めなかった。FW の使用感においては、その塩素臭の臭いになり、回答した患者は少なくなかったが、含嗽により味覚に変化が出た等、異変が生じた被験者はいなかった。さらに実験を中断した被験者はいなかった。

今回の実験では、予定していた被験者数を下回ってしまったが、FW の含嗽による含嗽効果を部分的に示唆できる結果となった。しかし、着目した細菌種の数の変化に有意な差を認めなかった点については慎重な考察が必要と考える。In-vitro の実験では、FW の殺菌力、さらにその作用機序や安全性について解明することができたので、高齢者における口腔ケア方法としての FW の有用性は高いと申請者は考えている。

## 参考文献

- ・口腔機能水ガイドライン、日本口腔機能水学会、2011 年
- ・機能水ではじめるヒトと環境にやさしい歯科臨床、鴨井久一他、砂房書、2012 年

図 2：FW の細胞障害性



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 西尾健介	4. 巻 8月号
2. 論文標題 高齢者における新たな肺炎予防法の検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 地域ケアリング	6. 最初と最後の頁 57-59
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Tomoko Takemoto, Ryo Kaetsu, Machiko Hanayama, Yuuichi Ishiyama, Masayuki Sadamura, Kensuke Nishio, Mariko Tsunoda, Masatake Asano, Mitsuru Motoyoshi	4. 巻 18(8)
2. 論文標題 Acid-electrolyzed functional water-induces Interleukin-1 release from Intracellular Storage Sites in Oral Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 1746-1752
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7150/ijms.53999	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西尾健介、及川大智、浅野正岳
2. 発表標題 電解酸性機能水を用いた、肺炎予防法の検討
3. 学会等名 日本機能水学会第18回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 深澤 麻衣、及川 大智、高橋 佑和、織茂 由香里、塩田 洋平、西尾 健介、伊藤 智加、飯沼 利光
2. 発表標題 脳の虚血状態に伴うIba-1の動態
3. 学会等名 日本老年歯科医学会第31回学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 及川大智、西尾健介、浅野正岳
2. 発表標題 電解酸性機能水を用いた、肺炎予防法の検討
3. 学会等名 第21回日本口腔機能水学学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西尾健介、田村宗明、及川大智、浅野正岳
2. 発表標題 電解酸性機能水による含嗽効果の検討 - 殺菌効果と宿主細胞への影響 -
3. 学会等名 日本機能水学会第19回学術大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------