

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：32610

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16559

研究課題名（和文）唾液微生物叢と生活習慣病の関連についての包括的microbiome解析による検討

研究課題名（英文）Comprehensive microbiome analysis of the association between salivary microbiota and metabolic syndrome

研究代表者

三好 佐和子（MIYOSHI, Sawako）

杏林大学・医学部・学内講師

研究者番号：90846817

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）：本研究では、食事などの環境要因の受けづらい人間ドック受診時の唾液検体を用い、健常からメタボリックシンドローム罹患に至るまでの口腔内細菌叢の変化を評価した。対象者を健常群、メタボリックシンドローム群、肥満を伴わない代謝関連疾患群、疾患を伴わず肥満のみを認める群の4群に分け、それぞれの唾液内細菌叢の多様性、構成の違いを男女に分けて解析した。各群の細菌種の多さ、均等性を比較すると、男性の肥満のみの群で有意な多様性の低下を認めた。さらに、男性肥満群と、男性のメタボリックシンドローム群（肥満かつ疾患あり）群では有意な細菌叢構成の違いを認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、人間ドック受診者という一般人口において、同じ肥満例であっても、糖尿病や高血圧、脂質異常症といった生活習慣病の有無により口腔内細菌叢の変化が生じる可能性が示唆された。この知見は口腔内細菌叢と生活習慣病の病態との関連を示したという学術的意義とともに、採取の容易な唾液検体からの生活習慣病発症リスク評価、モニタリングツール開発という社会的意義につながるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to assess the sequential differences in the oral microbiota from healthy populations to metabolic syndrome patients using saliva samples collected at health checkup, which were less influenced by environmental factors such as diet. The subjects were divided into four groups: healthy group, metabolic syndrome group, metabolic-related disease group without obesity, and obesity group without metabolic-related diseases. These groups were evaluated for differences in diversity and composition of saliva microbiota separately for men and women. Comparing the richness and evenness of bacterial species in each group, the male obesity group without metabolic-related disease showed a significant decrease in diversity. Furthermore, significant differences in bacterial composition were found between the male obesity group with diseases and the male metabolic syndrome group with obesity.

研究分野：消化器内科

キーワード：口腔内微生物叢 Microbiome解析 生活習慣病 人間ドック 唾液

1. 研究開始当初の背景

ヒトの共生微生物叢 (microbiota) は、宿主であるヒトと緊密な相互関与を行いながら、ヒトの健康維持に貢献している。近年では、microbiota の乱れ (dysbiosis) が、免疫疾患、代謝性疾患に関与することが報告され、特に糞便検体を用いた腸内 microbiota について精力的な研究が進められてきた。一方、消化管の入り口である口腔内には健常人で 7-8 億/mL (唾液中) の細菌が存在し、1 日 1.0-1.5L の唾液が嚥下される。口腔内細菌叢は、腸内細菌叢と相関し、さらに胆汁や胃酸の影響が弱くなる加齢変化に伴い、その相関は強くなることが報告されている¹⁾。また、口腔内細菌が異所的に腸管に生着し炎症性腸疾患のような消化管疾患の原因となるとの報告²⁾や動脈硬化性疾患、関節リウマチなどの全身疾患の経過や病態生理に影響する可能性が示唆されている³⁾。

脳・心血管疾患などのリスクとなる代謝関連疾患 (いわゆるメタボリックシンドローム) は、加齢とともに罹患数が増加し、健康寿命短縮、QOL 低下にもつながり、医療費の観点からも、一次予防、早期介入が非常に重要である。その中で、健康から疾患に至るまでのシーケンシャルな体内細菌叢の変化は、この早期介入の一つの指標となる可能性がある。特に、健診や人間ドック受診者には、完全な健常人のほか、メタボリックシンドローム予備軍、治療介入前のメタボリックシンドローム罹患者が多く含まれているため、早期介入の重要な場である。健康からメタボリックシンドローム罹患に至る体内細菌叢の検討において、検査前絶食状態のため食事などの外的環境の影響を最小限にできるサンプリング、豊富な臨床情報や検査データを得られる人間ドックでの解析は非常に有用と考えられ、様々な疾患マーカーの開発につながる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、健常からメタボリックシンドローム罹患に至るまでの口腔内細菌叢の変化を評価することを目的として、人間ドック受診者の唾液検体を用いた検討を実施した。

人間ドック受診者を、糖尿病、高血圧、脂質異常症等 (代謝関連疾患) を有さない健常群 (Healthy control : HC 群)、メタボリックシンドローム群 (Metabolic syndrome : MS 群)、非肥満/代謝関連疾患群 (Unhealthy normal weight : UN 群)、肥満/非代謝関連疾患群 (Healthy obesity : HO 群) の 4 群に分け、それぞれの唾液内細菌叢の違い、疾患関連臨床データと唾液内細菌叢の経時変化の相関性を検討することとした。

3. 研究の方法

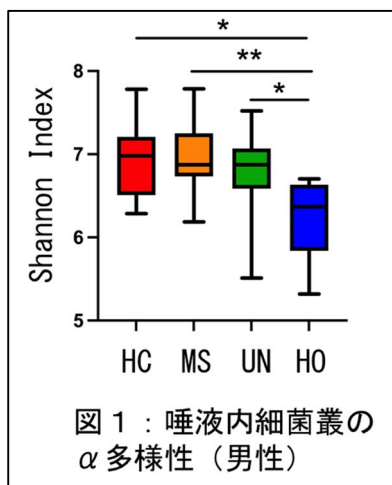
2021 年 7 月から 2024 年 2 月までの杏林大学医学部附属病院人間ドック受診者のうち、同意を得られた受診者に対し、前日夜から絶食下の人間ドック受診時に唾液採取を行った。唾液はただちに DNA 抽出処理を行い、全細菌特異的 16S rRNA 標的 primer set (Eub338F・Eub518R) を使用した PCR により細菌 DNA の有無を確認した。

また、人間ドック受診時の臨床データ (各種測定データ、問診による既往、内服歴) から、本邦メタボリックシンドローム診断基準に準じ、HC 群 : 非メタボリックシンドロームかつ Body Mass Index (BMI) 正常 (BMI 18.5 以上 25 未満)、糖尿病、高血圧、脂質異常加療歴なし、MS 群 : メタボリックシンドローム診断基準を満たす、UN 群 : 腹囲径正常 (男性 < 85cm、女性 < 90cm) かつ BMI 正常、血糖・脂質・血圧異常を有する (非加療)、HO 群 : メタボリックシンドローム診断基準をみたさない BMI 25 かつ上記疾患加療歴なし、の 4 群を抽出した。各群において、唾液検体の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンシング (V4 領域) 解析を行った。

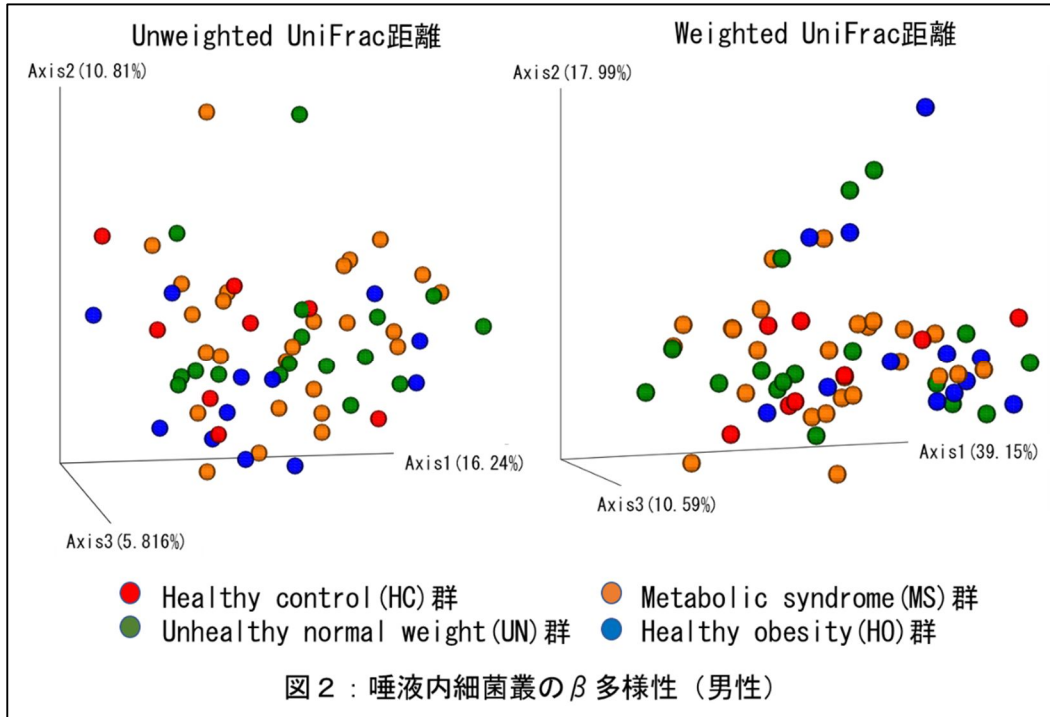
4. 研究成果

特定健診対象となる中年～前期高齢者 45～74 歳を対象を絞り、細菌叢の性差を考慮し、男性、女性それぞれについて QIIME2 を用い解析を行った。まず、4 群それぞれについて構成細菌叢の多様性について、種の多さ、均等性の両要素を考慮した指標である Shannon index を評価した。HC、MS、UN 群では有意な差を認めなかったが、男性において、肥満にも関わらず代謝関連疾患を有さない HO 群では他群と比較し有意に多様性の低下を認めた (図 1)。

次に、各群の多様性の相違度、多様性について、UniFrac 距離に基づきの検討を行った。検体内に存在する細菌の種類に着目した Unweighted UniFrac 距離、細菌の種類に加えて占有割合も考慮した Weighted UniFrac 距離についての PCoA プロットを図 2 に示す。多様性の変化を認めた男性 HO 群について、同様に肥満を伴い、かつ疾患を有する男性 MS 群を比較すると、Weighted UniFrac 距離において、有意な変化を認めた。



肥満を伴う男性では、疾患未発症例と疾患発症例では唾液内細菌叢構成の変化を認める可能性が示唆された。



<引用文献>

1. Iwachi, M., et al., Relationship between oral and gut microbiota in elderly people. Immun Inflamm Dis, 2019. 7(3): p. 229-236.
2. Atarashi, K., et al., Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. Science, 2017. 358(6361): p. 359-365.
3. Zhang, X., et al., The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. Nat Med, 2015. 21(8): p. 895-905.

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 三好 佐和子	4. 巻 54
2. 論文標題 人間ドック受診者における口腔内・腸内微生物叢を用いた 生活習慣病の新規バイオマーカーの探索	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 杏林医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 s11-12
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------