

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18798

研究課題名（和文）小児の口腔と腸内の細菌叢は自閉スペクトラム症に関連しているか

研究課題名（英文）Is the Oral and Gut Microbiota of Children Associated with Autism Spectrum Disorders?

研究代表者

豊田 有希 (Toyota, Yuki)

北海道大学・大学病院・特任助教

研究者番号：00825507

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）：近年、腸内細菌叢の乱れが脳に影響を与えることが明らかになり、自閉スペクトラム症（ASD）との関連が指摘されている。日々、唾液を飲み込むことで持続的に嚥下される口腔細菌は、直接的に、あるいは腸内細菌への影響を介して間接的に、ASDに関与している可能性がある。本研究は、ASD患者の唾液と糞便から口腔と腸内の細菌叢を解析し、その組成バランスに特異性があるかを明らかにすることを目的として実施した。その結果、ASD患者の口腔と腸内の細菌叢は、定型発達の患者の組成とは異なっていることが認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果から、ASD患者の口腔と腸内の細菌叢は、定型発達の患者の細菌叢とは類似していなく、定性的な評価、定量的な評価においても有意差が認められた。さらに、ASD患者群と定型発達群を区別し得る細菌種の候補を複数見出した。

本研究の結果がASDの病態に関係しているかどうかはさらなる研究が必要だが、今回の結果は、ASD患者の診断や治療アプローチに新しい視点を与える可能性がある。ASDの病因解明に貢献できるだけでなく、唾液や糞便の検査という低侵襲な方法がASDの早期診断やバイオマーカーとして活用できるかも知れない。

研究成果の概要（英文）：In recent years, it has become clear that disruption of the gut microbiota affects the brain and has been linked to autism spectrum disorder (ASD). Oral bacteria, which are persistently swallowed through saliva daily, may be involved in ASD, either directly or indirectly through their effects on gut bacteria.

This study was conducted to analyze the oral and gut microbiota from saliva and feces of ASD patients to determine whether there is any specificity in the compositional balance. The results showed that the oral and gut microbiota of ASD patients differed in composition from that of patients with sedentary development.

研究分野：小児歯科

キーワード：口腔細菌叢 腸内細菌叢 自閉スペクトラム症 メタゲノム解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、脳と腸との関係が注目を集めている。脳と腸は、神経、ホルモン、炎症性分子などの伝達経路を介して密接に結びついている。その脳と腸の情報伝達、“脳腸相関”に腸内細菌叢が重要な役割を担っている。

腸は、そこに宿る腸内細菌との密接な相互作用を通して、基本的な情動、ストレス応答や社会的な振る舞いに影響を及ぼすことが明らかになってきた。このことから、コミュニケーションや社会性の障害、反復・常同行動を特徴とする自閉スペクトラム症(Autistic Spectrum Disorders: ASD)における腸内細菌叢の役割について研究が行われてきている。

日々、唾液を飲み込むことで持続的に嚥下される口腔細菌は、腸管に達し、直接的に、あるいは腸内細菌への影響を介して間接的に、ASD に関与している可能性がある。しかし、その関連については未だ明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究は ASD 患者の唾液と糞便から口腔と腸内の細菌叢をメタゲノム解析し、その組成バランスに特異性があるかどうかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

ASD 患者と定型発達 (TD) の患者から検体として唾液と糞便を採取し、口腔と腸内の細菌叢のメタゲノム解析を行った。診療情報から口腔内所見 (歯列、口腔清掃状態、硬組織所見、軟組織所見)、質問票から身長と体重、既往歴 (消化器症状、喘息、アレルギーなど)、出生と栄養 (分娩様式、母乳・人工乳、卒乳時期など)、食事 (極端な偏食、習慣的な飲食物)、生活習慣 (歯磨きの回数、歯磨剤や含嗽剤の使用、習癖) のデータを収集した。

(1) 研究参加者

ASD と診断された患者 10 名と定型発達 (TD) の患者 10 名

表 1. 研究参加者の特徴

	ASD	TD
対象者 (人数)	10	10
年齢 (歳)	8.93 (5.42-19.33)	10.22 (3.67-14.92)
性別 (人数)		
男	8	8
女	2	2

(2) サンプルの採取

唾液

唾液の採取は、当該患者の外来受診日に診療室で歯科医師が行った。プラスチック容器へ吐き出す方法で、1ml 程度の安静時唾液を採取した。尚、30 分前までに飲食や歯磨き、うがい薬の使用をしないようあらかじめ指導を行った。唾液は、遠心分離後、上清を取り除き冷凍保管した。

糞便

糞便の採取は、事前に配布した糞便採取キットを用いて、家庭で患者本人または保護者が行った。外来受診日の 1 週間前～当日までの間に糞便の採取を行うよう保護者に指導した。糞便採取後の採取キット保存液を冷凍保管した。

(3) メタゲノム解析

冷凍保存したサンプルを、口腔常在微生物叢解析センターに冷凍便で輸送し、次世代シーケンサーを利用したメタゲノム解析を依頼した。

(4) 情報解析

シーケンスデータは、Qiime 2 ソフトウェアを用いて、処理・解析を行い、口腔と腸内の細菌叢について、ASD 患者と定型発達の患者の群間比較を行った (細菌組成データ、多様性)。

4. 研究成果

ASD 患者の口腔と腸内の細菌叢は、定型発達の患者の組成とは異なっていることが認められた (図 1)。また、菌種組成の類似性の比較 (多様性) を解析したところ、ASD 患者の口腔と腸内の細菌叢は、定型発達の患者の細菌叢とは類似していないことが認められ (図 2)、定性的な評

価、定量的な評価においても有意差が認められた（統計：Pairwise permanova）。さらに、ASD 患者群と定型発達群を区別し得る細菌種の候補を複数見出した。

本研究の結果が ASD の病態に関係しているかどうかはさらなる研究が必要だが、今回の結果は、ASD 患者の診断や治療アプローチに新しい視点を与える可能性がある。

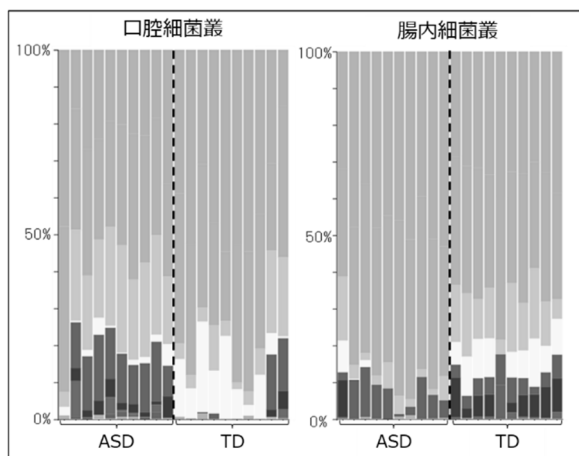


図 1. 細菌組成（門レベルでの相対的存在量）

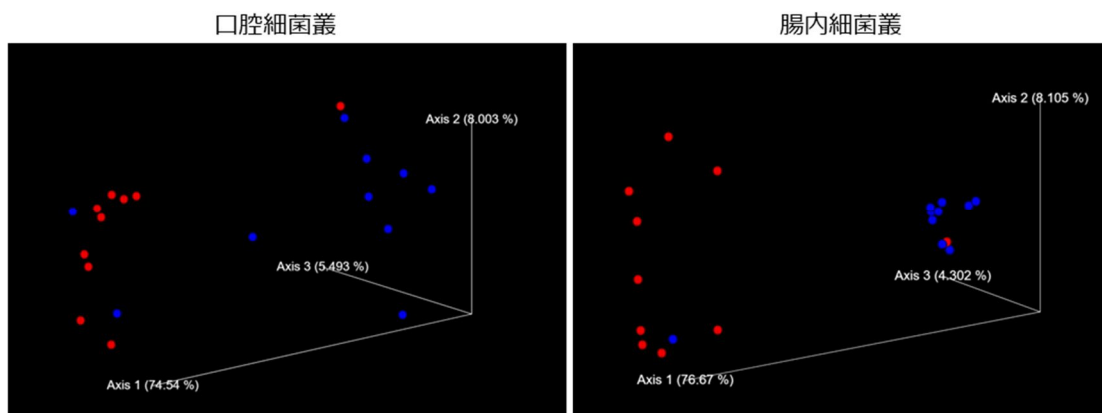


図 2. 多様性（Weighted-UniFrac 解析）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------