

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16323

研究課題名（和文）COVID-19患者における口腔内細菌叢の解析

研究課題名（英文）Oral microbiome analysis of COVID-19 patients

研究代表者

太田 賢治（Ota, Kenji）

長崎大学・病院（医学系）・助教

研究者番号：70894624

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、COVID-19と口腔内細菌叢の関連を明らかにするため、1. COVID-19患者群と非感染者群から採取した唾液検体、2. COVID-19患者から経時的（発症後1日、3日、7日、14日）に採取した唾液検体を用いて、口腔内細菌叢解析を行った。COVID-19患者において口腔内の細菌叢の多様性に有意な変化は観察されなかったが、占有率に変化をきたす科が複数認められ、いくつかの種の占有率の変化も観察された。また、感染後においても同様に多様性は変化がみられなかったが、科および種の経時的变化が認められた。COVID-19の感染の有無および経時的推移による細菌叢の変化が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、COVID-19による口腔内細菌叢の変化が明らかになった。我々ので占有率に変化がみられた細菌は、SARS-CoV-2のウイルス量やCOVID-19後遺症と関連がある可能性が報告されている。本研究結果をもとに、特定の細菌が産生するタンパク質が及ぼす病態への関与を明らかにしていく研究が今後望まれる。

研究成果の概要（英文）：We aimed to clarify the association between COVID-19 and oral microbiota. Oral microbiota analysis was performed using saliva samples collected from 1. COVID-19 patients and non-infected subjects, and 2. COVID-19 patients over time (day1, day3, day7, day14). No significant changes in the diversity of the oral microbiota were observed between COVID-19 patients and healthy controls, but several changes in abundance of families and species were observed. Similarly, the abundance of families and species changed over time, though the diversity showed no significant changes with time.

研究分野：臨床微生物学

キーワード：COVID-19 SARS-CoV-2 細菌叢解析 唾液

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

COVID-19 が世界中で猛威を振るう中、我が国を含むアジア地域では感染者数・死者数ともに相対的に少なく推移している。その理由として遺伝学的素因、生活習慣、ウイルスの病原性など、いくつかの仮説が提唱されてきたが、十分に説明するに至っておらず、COVID-19 の病態については明らかになっていない点が多い。

口腔内常在菌の組成とその代謝物から構成される口腔内細菌叢は、呼吸器系疾患をはじめとする多くの疾患との関連性が報告されており、細菌性肺炎やインフルエンザウイルス感染症などの呼吸器感染症においては、口腔内細菌叢の状態は炎症反応の誘導や宿主の防御機構に影響することが明らかとなっている。しかしながら、口腔内細菌叢と COVID-19 の病態との関連はわかっていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、口腔内細菌叢と COVID-19 の病態との関連を明らかにすることを目的とし、集団内における COVID-19 患者と健常者から得られた唾液検体を用い、口腔内細菌叢解析の比較・検討を行う。また、COVID-19 患者から連続して採取した検体を用い、細菌叢の経時的变化を観察する。本研究により、COVID-19 患者における口腔内細菌叢の変化を明らかにすることは、COVID-19 の病態解明と重症化の機序、治療法への応用などに新しい展開をもたらすことにつながる。

### 3. 研究の方法

本研究では、COVID-19 患者と健常者の唾液の細菌叢解析を行い、その違いを検証する。唾液検体を用いることによって得られる口腔内細菌叢は生活習慣の影響を大きく受けるため、対象の属する集団間によって異なることが予想される。そのため、本研究では、2つの比較的均一と考えられる集団から、COVID-19 患者と健常者の検体収集を行い、細菌叢の比較検討を行う。細菌叢解析には、唾液検体から核酸を抽出したのち、次世代シーケンサーを用いて各細菌の遺伝子配列である 16s rRNA 配列を指標に菌叢解析を行う。

#### (1) 集団内での比較 (COVID-19 患者 vs 非感染者)

2020 年 4 月に長崎港に停泊中のクルーズ船内で、乗員の COVID-19 の集団感染が発生した。その際に診療目的で採取した唾液検体から核酸を抽出し、-80 で凍結保存した。その検体を用いて、メタ 16S 解析を行い、患者群と非感染者群の間で細菌叢の比較を行う。

#### (2) 経時的变化の観察

COVID-19 患者における口腔内細菌叢変化を経時的に観察するため、発症日、3 日目、7 日目、14 日目に採取した唾液検体を用いて、メタ 16S 解析を行い、それぞれの採取日間での細菌叢の比較を行う。

### 4. 研究成果

#### (1) 集団内での比較 (COVID-19 患者 vs 非感染者)

患者群 38 例、非感染者群 20 例から採取された検体を用いた。両群間において多様性 (α-diversity-Total number) に有意差はみられなかった (図 1)。

両群間の組成を Family レベルで比較すると、COVID-19 群で Microbacteriaceae (Fold change -206.8,  $P < 0.001$ ) や Chromobacteriaceae (Fold change -22.4,  $P < 0.001$ ) などの占有比率が有意に低下しており、一方、Staphylococcaceae (Fold change 71.8,  $P < 0.001$ ) や Termitinematocae (Fold change 84.2,  $P < 0.001$ ) などの占有比率が有意に上昇していた (図 2)。

また、Species レベルで比較すると、COVID-19 群で *Streptococcus pneumoniae* (Fold change -4000.07,  $P < 0.001$ ) や *Prevotella melaninogenica* (Fold change -3170.69,  $P < 0.001$ ) などの占有比率が有意に低下していた (表 1)。

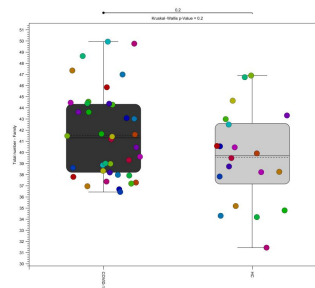
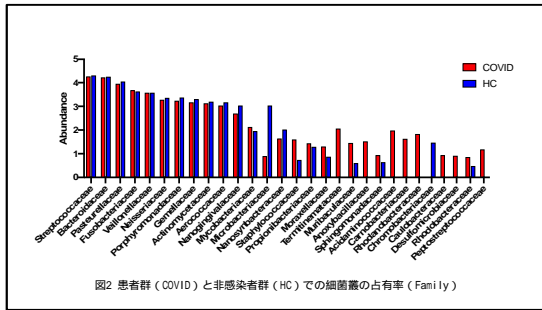


図1 患者群 (COVID) と非感染者群 (HC) での細菌叢の占有率 (α-diversity Total number)



	COVID-19 (fold change)	P
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-4000.07	<0.001
<i>Prevotella melaninogenica</i>	-3170.69	<0.001
<i>Veillonella rogosae</i>	-2238.27	<0.001
<i>Nanoringivalis gingivitus</i>	-2047.32	<0.001
<i>Streptococcus mitis</i>	-1923.94	<0.001

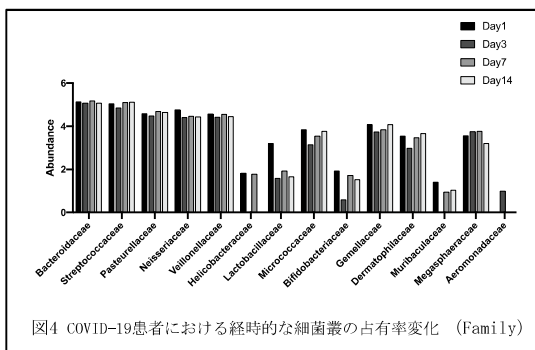
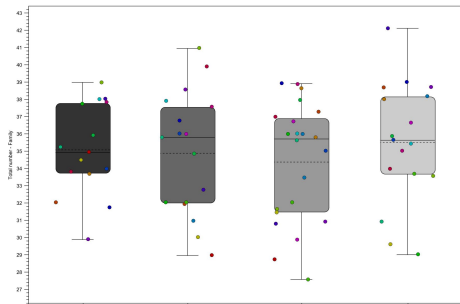
表1 患者群 (COVID-19) における占有率の変化 (Species)

## (2) 経時的変化の観察

計 22 例の COVID-19 患者から経時的に採取された検体を用いた。4 群間において多様性 ( -diversity-Total number) に有意差はみられなかった (図 3)。

細菌叢の組成を Family レベルで比較すると、Lactobacillaceae の占有率が経時的に低下する傾向がみられた (Day1 vs Day3, Fold change -17.9, P<0.001; Day1 vs Day7, Fold change -21.6, P<0.001; Day1 vs Day14, Fold change -49.2, P<0.001) (図 4)。

また、Species レベルで比較すると、*Streptococcus mitis* の占有率が経時的に上昇しており (Day1 vs Day3, Fold change -5.89, P<0.05; Day1 vs Day7, Fold change -9.08, P<0.05; Day1 vs Day14, Fold change -1801.58, P<0.001)、*Nanoringivalis gingivitus*, *Prevotella melaninogenica*, *Streptococcus pneumoniae* の占有率の低下がみられた (表 2)。



	day14 vs day1 (fold change)	P
<i>Streptococcus mitis</i>	1801.58	<0.001
<i>Nanoringivalis gingivitus</i>	-735.95	<0.001
<i>Prevotella melaninogenica</i>	-415.71	<0.001
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-422.20	<0.001

表2 患者群 (COVID-19) における占有率の変化 (Species)

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Ota Kenji, Kurahara Ryo, Tsukamoto Chie, Kawamoto Yasuhide, Akamatsu Norihiko, Sasaki Daisuke, Mitsumoto-Kaseida Fujiko, Sakamoto Kei, Kosai Kosuke, Hasegawa Hiroo, Yamamoto Kazuko, Izumikawa Koichi, Mukae Hiroshi, Yanagihara Katsunori	4. 巻 11
2. 論文標題 Performance of the GeneSoC Rapid PCR System in Detection of SARS-CoV-2 from Saliva Specimens	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/spectrum.03259-22	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Ota K, Murakami S, Ishihara K, Sasaki D, Usui T, Mitsumoto-Kaseida F, Sakamoto K, Kosai K, Hasegawa H, Takazono T, Furumoto A, Asoh N, Yoshimine H, Sawai T, Onizuka M, Makimoto N, Izumikawa K, Mukae H, Kohno S, Yanagihara K	4. 巻 13
2. 論文標題 Serological response to a third dose of SARS-CoV-2 vaccine according to previous infection history	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Vaccine: X	6. 最初と最後の頁 100282 ~ 100282
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jvacx.2023.100282	査読の有無 有
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5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 太田 賢治
2. 発表標題 COVID-19患者における口腔内細菌叢の解析
3. 学会等名 九州微生物研究フォーラム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 太田 賢治
2. 発表標題 COVID-19患者における口腔内細菌叢の解析
3. 学会等名 第33回日本臨床微生物学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 太田 賢治
2. 発表標題 COVID-19による口腔内細菌叢における嫌気性菌の変化
3. 学会等名 第51回日本嫌気性菌感染症学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 太田 賢治
2. 発表標題 COVID-19患者における口腔内細菌叢の変化
3. 学会等名 第96回日本感染症学会・学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenji Ota
2. 発表標題 COVID-19 alters oral microbiome in closed community on a cruise ship
3. 学会等名 the 32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases
4. 発表年 2022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
---------	---------