

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17199

研究課題名(和文) プロバイオティクスの口腔・腸・脳相関への影響 - 自閉スペクトラム症における検討

研究課題名(英文) The effects of probiotics on the oral cavity-gut-brain correlation: A study on autism spectrum disorder

研究代表者

尾田 友紀(Oda, Yuki)

広島大学・病院(歯)・専門研究員

研究者番号：40641949

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：初年度、新型コロナウイルスの影響で、ASD者の来院が激減し、対象者の決定が難航した。そこで、知的能力障害者を広く対象とし、まずは健常者と知的能力障害者の口腔内細菌叢の違いがあるかを検討し、知的能力障害者の口腔内細菌叢の多様性は、健常者と比較して有意に低いことが明らかになった。上記の成果は、日本障害者歯科学会・国際障害者歯科学会にて発表後、英語論文としてまとめた。次年度以降は、ASD者16名と同居する兄弟について、唾液、歯垢、便を採取し、細菌叢の違いについてゲノム解析を行い、唾液と歯垢では、自閉スペクトラム症群は健常者と比較して、有意に多様性が高く、便においては差がないことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果より、自閉スペクトラム症者の細菌叢を健常者と比較した結果、唾液と歯垢では自閉症者で多様性が有意に高かった。一方で、かねてより報告されていた便においては多様性に違いがみられなかった。かねてより、精神疾患の精神症状と腸内細菌叢に何らかの関連がある可能性が指摘されているが、本研究よりASD群と健常群の口腔内細菌叢の違いは、腸内細菌叢における違いよりも顕著であった。このことから、口腔・腸・脳相関が存在する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the first year, due to COVID-19, the number of patients with ASD visiting the hospital dropped sharply, making it difficult to determine the subjects. The study broadly targeted people with intellectual disabilities, and first examined whether there were differences in the oral flora of healthy people and those with intellectual disabilities. It was found that the diversity of the oral flora of people with intellectual disabilities was significantly lower than that of healthy people. The above results were presented at the Japanese Society of Disability Dentistry and the International Society of Disability Dentistry, and then compiled as an English paper. From the following year onwards, saliva, dental plaque, and stool were collected from 16 people with ASD and their siblings living together, and genome analysis was performed. It was found that the ASD group had significantly higher diversity in saliva and dental plaque than healthy people, but there was no difference in stool.

研究分野：障害者歯科学

キーワード：Autistic spectrum oral flora intestinal flora ゲノム解析 16S rRNA gene analysis

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腸内細菌と脳機能や精神疾患の関連について、ストレス応答や精神疾患の病因に重要な役割を果たすエビデンスが蓄積されたことで、「脳腸相関 brain-gut interaction」や「腸内細菌叢 - 腸 - 脳・軸 microbiota-gut-brain axis」に関する研究分野がトピックスとなっている。ASD 者では、消化器症状を示す者が多く (Chaidez 2014 J Autism Dev Disord), 重症度とも関連することから、古くから腸内環境の関与が検討されている (Chaidez 2014, Adams 2011 BMC Gastroenterol, 柄谷 2017 腸内細菌学雑誌). 近年, ASD 者数が増加している (発症率 1/100) ことに加え, 有効な治療法が殆どないことから, 今後の発展が期待されている研究分野である。

従来, 腸管は口腔細菌の影響を受けないと考えられてきたが, 近年, 口腔細菌が腸管に到達し腸内細菌叢に影響することが明らかになってきた。口腔内細菌叢の構造異常が, 糖尿病などのリスクを高める (Saito 2004 J Dent Res) ことは, 口腔細菌が腸管から血行性に全身循環に入った結果, 口腔内細菌叢が腸内細菌叢に影響を及ぼしている可能性が考えられている。これらの知見は, 口腔内細菌叢 - 腸内細菌叢 - 腸 - 脳・軸を介した「口腔・腸・脳相関」が存在し, 口腔内細菌叢変化が脳機能や精神疾患に影響を及ぼす可能性を浮き彫りにしていると考えた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、自閉スペクトラム症 (ASD) 者において、口腔内細菌叢と腸内細菌叢の関連を明らかにし、口腔・腸・脳相関の存在を明らかにすることであった。本研究は、これまで明らかでなかった口腔内細菌 - 腸内細菌 - 脳の相関を解明する点、ASD 者を対象にすることで、脳への影響の観察を容易にしている点、これまで報告が皆無であった ASD 者の口腔内・腸内細菌叢を同時かつ網羅的にメタゲノム解析する点において学術的独自性を有していた。本研究により ASD と関連が深い口腔・腸内細菌や細菌叢が明らかになれば診断の一助となる可能性があり、さらには口腔内・腸内細菌や細菌叢に働きかけることで ASD の症状を軽減することができると考えた。

### 3. 研究の方法

| ASD 群は広島大学附属病院障害者歯科を定期受診中の ASD の男女 16 名を募集し、健常群として ASD 群と同居する健常なきょうだい 16 名を対象とした。

#### 被験者の基準

##### 包含基準(選択基準)

20歳～60歳である

DSM-5において自閉スペクトラム症の診断基準を満たす(対照群を除く)

本人および代諾者が本研究の内容を理解し文書同意が得られる

##### 除外基準

DSM-5で統合失調症および他の精神病性障害、せん妄、認知症、健忘障害、及び他の認知障害、物質関連障害、摂食障害、パーソナリティ障害(対照群では、知的能力障害および自閉スペクトラム症も含む)のいずれかの診断基準を満たす者

嚴重な食事管理を要する身体疾患、その他重症の全身疾患に罹患している者

妊娠の可能性、妊娠中、授乳中の女性

精神症状や身体症状が安定しない者

歯周病やう蝕などの歯科疾患に罹患している者

過去3か月間に抗生物質を服用した者

その他試験実施担当者により被験者として適当でないと判断される

#### ASD 者と健常者の口腔・腸内細菌叢の解析と ASD 症状の評価

被験者群および対照群において、口腔内検体(採取部位:舌背,唾液)の採取および便検体の提供を受け、障害者歯科研究室にて検体 DNA を抽出し、その後、メタゲノム解析を、生物技研に委託した。

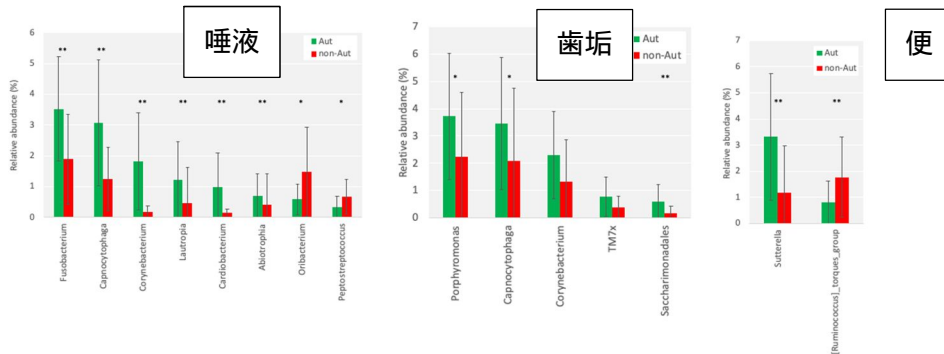
自閉スペクトラム症状の評価指標(本人及び保護者に聴取)

評価項目	内容および方法
PARS   日本自閉症協会版広汎性発達障害評定尺度(PDD-Autism Society Japan Rating Scale)	33項目:自閉スペクトラム症状をスコア評定する。
強度行動障害判定基準表(厚生労働省)	12項目:ASD症状の中でも特に社会的に問題となる行動をスコア評定する。
SP 感覚プロファイル(Pearson社)	38項目:感覚の過敏性や過鈍さをスコア評定する。

#### 4. 研究成果

##### 1) ASD 群と健常群の唾液・歯垢・便における相対的菌保有率の違い

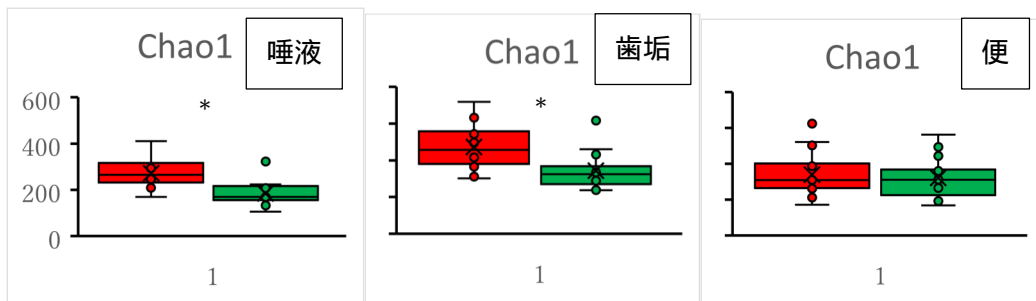
唾液では *Fusobacterium* など 6 属で、健常群と比較して ASD 群では有意に RA が高く、2 属で有意に低かった。歯垢では *Porphyromonas* など 5 属で ASD 群では有意に RA が高く、便では *Sutterella* 属で有意に高かった。



##### 2) ASD 群と健常群の唾液・歯垢・便における多様性の違い

多様性解析の結果では、唾液・歯垢では ASD 群の多様性が有意に高く、便では違いはなかった。

(各  $P < 0.001$  ,  $P < 0.001$  ,  $P = 0.846$  ) .



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yuki Oda, Chiaki Furutani, Reo Kawano, Jumpei Murakami, Yuika Mizota, Yoshiyuki Okada, Hiroki Nikawa	4. 巻 54
2. 論文標題 Comparison of dental plaque flora between intellectually disabled patients and healthy individuals: a cross-sectional study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Odontology	6. 最初と最後の頁 372-383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10265-023-00837-6	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 Yuki Oda, Reo Kawano, Jumpei Murakami, Isamu Kado, Yoshiyuki Okada, Hiroki Nikawa	4. 巻 54
2. 論文標題 Effect of Lactobacillus rhamnosus L8020 on the abundance of periodontal pathogens in individuals with intellectual disability: A randomized clinical trial	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Quintessence International	6. 最初と最後の頁 372-383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3290/j.qi.b3773965	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 Yuki Oda, Chiaki Furutani, Yuika Mizota, Hiroki Nikawa	4. 巻 9
2. 論文標題 Role of Lactobacillus rhamnosus in Oral Health of Disabled Individuals	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Oral Health Reports	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s40496-022-00305-0	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 Yuki Oda, Keita Yoshida, Chiaki Furutani, Atsuko Wakita, Yoko Hama, Miwa Miyauchi, Yoshiyuki Okada	4. 巻 66
2. 論文標題 Treatment of dental caries in a patient with Joubert syndrome without the use of sedatives: A case study,	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Special Care in Dentistry	6. 最初と最後の頁 411-416
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/scd.12572.	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12件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Yuki ODA, Chiaki FURUTANI, Yuika MIZOTA, Hironori MIYAZAKI, Masako MORIMOTO, Yoshifumi NISHIO, Hisaho YAMAGUCHI, Yuriko YOSHIDA, Yoshiyuki OKADA, Hiroki NIKAWA
2. 発表標題 Comparison of Dental Plaque Flora in Intellectually Disabled Patients and Healthy Individuals; A cross-sectional study
3. 学会等名 第26回 iADH国際障害者歯科学会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H Miyazaki, K Miyahara, T Tokikazu, C Furutani, Y Yoshida, Y Oda, Y Okada
2. 発表標題 Effect of central command by repetitive pain experiences on hemodynamic responses during the cold pressor test
3. 学会等名 Experimental Biology 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小田 綾, 大植香菜, 尾田友紀, 向井明里, 土井 充, 清水慶隆, 吉田充広, 入船正浩
2. 発表標題 脳性麻痺患者の全身麻酔下歯科治療後に生じた 2 型呼吸不全に対し経鼻高流量酸素療法 が有効であった1例
3. 学会等名 第35回 中国・四国歯科麻酔研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuki Oda, Chiaki Furutani, Tsuyoshi Taji, Yuika Mizota, Yuriko Yoshida, Kota Miyahara, Hironori Miyazaki, Masako Morimoto, Hisaho Yamaguchi, Yoshifumi Nishio, Yoshiyuki Okada, Hiroki Nikawa,
2. 発表標題 The effect of Lactobacillus rhamnosus L8020 on periodontal pathogens in intellectually disabled individuals
3. 学会等名 The 6th Joint Scientific Meeting in Dentistry（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	尾田友紀, 古谷千昌, 溝田結日, 宮原康太, 宮崎裕則, 高島慎輔, 和木田敦子, 田地 豪, 岡田芳幸, 二川浩樹, 古谷千昌, 溝田結日, 宮原康太, 宮崎裕則, 高島慎輔, 和木田敦子, 田地 豪, 岡田芳幸, 二川浩樹プロバイオティクスの継続摂取により、有用菌は知的能力障害者の口腔内で増加するのか,
2. 発表標題	プロバイオティクスの継続摂取により、有用菌は知的能力障害者の口腔内で増加するのか
3. 学会等名	第24回日本歯科医学会学術大会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	古谷千昌, 尾田友紀, 若林侑佳, 安田陽香, 宮原康太, 宮崎裕則, 高島慎輔, 吉田結梨子, 内藤真理子, 岡田芳幸
2. 発表標題	緊急事態宣言中の障害者歯科受診延期・継続に関わる因子に関する検討,
3. 学会等名	第24回日本歯科医学会学術大会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	吉田結梨子, 尾田友紀, 古谷千昌, 宮崎裕則, 宮原康太, 時数智子, 渡真由子, 溝田結日, 西裕美, 河口浩之, 岡田芳幸
2. 発表標題	障害者歯科で研修を行った研修医を対象とした知識・技能・態度に対する自己評価の経時的変化について
3. 学会等名	第24回日本歯科医学会学術大会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	小田綾, 尾田友紀, 大植香菜, 高橋珠世, 好中大雅, 向井明里, 清水慶隆, 吉田充広, 岡田芳幸, 入船正浩
2. 発表標題	視覚支援により前投薬内服および全身麻酔かでの歯科治療が可能となった自閉スペクトラム症の一例
3. 学会等名	第24回日本歯科医学会学術大会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名 大植香菜、尾田友紀、小田綾、好中大雅、高橋珠世、向井明里、清水慶隆、吉田充広、岡田芳幸、入船正浩
2. 発表標題 心疾患を有する自閉スペクトラム症患児の全身麻酔に対しミダゾラム経鼻投与による前投薬が有効であった一例
3. 学会等名 第24回日本歯科医学会学術大会、
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮原康太、宮崎裕則、吉田結梨子、森本雅子、西尾良文、山口久穂、清水千昌、尾田友紀、岡田芳幸
2. 発表標題 亜酸化窒素による血管抵抗と脈波への影響
3. 学会等名 第38回日本障害者歯科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Aya Oda, Kana Oue, Yuki Oda, Akari Mukai, Mituru Doi, Yoshitaka Shimizu, Mitsuhiro Yoshida, Masahiro Irifune
2. 発表標題 Difficult intubation and postoperative aspiration pneumonia associated with Moebius syndrome: case report
3. 学会等名 American Society of Anesthesiologists Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小田綾、尾田友紀、田口志麻、大植香菜
2. 発表標題 麻酔導入時挿管困難と術後誤嚥性肺炎をきたしたメビウス症候群患者の周術期経験、
3. 学会等名 第41回日本臨床麻酔学会
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
---------	---------