

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11902

研究課題名(和文) 認知症の先制予防法開発の試み～口腔から全身を守る～

研究課題名(英文) Challenging to development of pre-emptive dementia prevention method.

研究代表者

角田 衣理加 (KAKUTA, ERIKA)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号：30585469

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)：慢性炎症を引き起こす歯周病関連細菌、血液脳関門を弱めて微生物の脳への侵入を助けるカンジダと認知症についての関連性を疫学的に模索することを目的とした。本研究に同意の得られた高齢者を対象に平成28年から令和元年に毎年1回健診を行い、口腔内診査、認知機能検査および口腔微生物学的検査を実施した。反復測定された認知検査スコア推移に関わる因子とその相互作用を一般化線形混合モデルにより解析した。その結果、*T. denticola*数、*Candida*属数が多くなると認知検査スコアは低くなる可能性が示唆された。また、3Dプリンタを応用したオーダーメイド歯ブラシを試作したが、臨床応用可能な材料の検討が課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔微生物と認知症の関連性が明らかになれば、口腔ケアなどの口腔微生物のコントロールは誤嚥性肺炎の予防だけでなく、認知症予防対策の1つと捉えられる可能性がある。実現可能な認知症予防対策を提供することは、認知症患者数と医療費・介護費用増加の抑制に貢献し、極めて重要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Major pathogens of chronic periodontitis are implicated in the development of several inflammatory diseases at remote organ sites. The aim of this study was to estimate the relationship of major pathogens of oral infections and cognitive functioning test score. From 2016 to 2019, elderly subjects were examined about the oral examination, the number of major pathogens of periodontitis and oral *Candida* species and cognitive functioning test score, one time of every year. The transitions of cognitive functioning test score, their associated factors and their interactions were analyzed by generalized mixed effect modeling with repeated measures. The number of *T. denticola* and *Candida* species had statistically significant negative co-relations for the cognitive functioning test score. Other than the above, the order made toothbrush was gotten by 3D printer, however additional work is need to material for 3D printer output for clinical trial.

研究分野：口腔微生物学

キーワード：認知機能 口腔微生物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国は超高齢社会をむかえ、65歳以上の高齢者人口は3,384万人(平成27年9月15日現在推計)総人口に占める割合は26.7%となっており、人口・割合共に過去最高となった¹⁾。65歳以上が費やす医療費は22兆860億円と全体の56.3%を占めている²⁾。認知症の社会的費用は年間約14.5兆円(2014年推計)³⁾に上ることが明らかとなった。今後、認知症高齢者が急増することによる医療費・介護費用を含む社会的費用の急激な増大は社会問題となっており、実用的な予防対策が求められている。

近年、医科系雑誌より、口腔微生物が全身の健康を脅かす原因となることを示唆する報告が増えている。既に、歯石除去の際に、一過性の菌血症が生じることはよく知られているが⁴⁾、近年、さらに認

知症と口腔感染症(歯周病やカンジダ症)の関連についての報告が増えている^{5,6)}。アルツハイマー病は、認知症の60-70%を占めており、治療法、予防法ともに関心を集めている。アルツハイマー病の原因として、感染症原因仮説が唱えられている⁷⁾。細菌感染とアルツハイマー病には強い相関が示唆され、特にスピロヘータは最も強い相関があるとされている⁸⁾。アルツハイマー病患者の脳病巣から口腔スピロヘータである *Treponema denticola* (*T. denticola*)が検出された⁹⁾、60歳以上を対象とした米国健康栄養調査(NHANES-)では、認知機能と血清抗 *P. gingivalis* 抗体に関連があると示唆している¹⁰⁾。カンジダは、血液脳関門バリア機能を低下させ、微生物の脳への侵入を容易にすることが報告されている¹¹⁾。以上のことから、歯周病関連菌とカンジダの共存は、アルツハイマー病進展に大きく関与する可能性があると考え、本研究の発案に至ったものである(図1)。

[参考文献] 1) 総務省統計局ホームページ

<http://www.stat.go.jp/data/topics/topi901.htm>(2015.10.8アクセス) 2) 厚生労働省ホームページ

<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/k-iryohi/12/dl/data.pdf>(2015.10.20

アクセス) 3) 厚生労働科学研究費補助金認知症対策総合研究事業

[http://www.keio.ac.jp/ja/press_release/2015/osa3qr000000wfbw-](http://www.keio.ac.jp/ja/press_release/2015/osa3qr000000wfbw-att/20150529_02.pdf)

[att/20150529_02.pdf](http://www.keio.ac.jp/ja/press_release/2015/osa3qr000000wfbw-att/20150529_02.pdf) (2015.10.9アクセス) 4) Denis F. Kinane et al. J Clin

Periodontol. 2005; 32:708-13. 5) Ingar Olsen and Sim K. Singhrao Journal of Oral

Microbiology. 2015; 7: 29143. 6) Angela R. Kamera et al. Neurobiol Aging. 2015; 36:

627-633. 7) Michael T Heneka, Monica J Carson, Joseph El Khoury, et al. Lancet

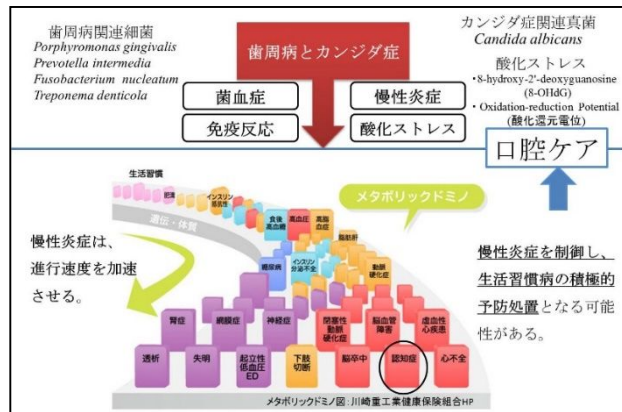
Neurol 2015; 14: 388-405. 8) Miklossy J. Expert Rev Mol Med 2011; 13: e30. 9)

Riviere GR, Riviere KH, Smith KS. Oral Microbiol Immunol 2002; 17: 113-118. 10)

Dezfulian M, Shokrgozar MA, Sardari S, et al. Med Hypotheses 2008;71: 651-656. 11)

Navarathna DH et al. candida NMR Biomed 2013; 26:1125-1134.

図1: 口腔微生物が認知症へ与える影響(概念)



2. 研究の目的

本研究では、平成 10～20 年度に 8020 健康調査の一環として実施された新潟高齢者研究の被験者を対象に、慢性炎症を引き起こす歯周病関連細菌、血液脳関門を弱めて微生物の脳への侵入を助けるカンジダと認知症についての関連性を疫学的に検討することを目的とする。

(1) 認知機能と口腔微生物の関係性についての検討

カンジダは、血液脳関門バリア機能を低下させ、微生物の脳への侵入を容易にすることから、慢性炎症を引き起こす歯周病関連菌とカンジダの共存は、アルツハイマー病の進展に大きく関与する可能性がある。本研究では、認知機能と歯周病関連菌・カンジダの関連を解明するため、唾液の口腔微生物を対象に認知機能検査スコアと口腔微生物（総菌数、歯周病関連菌数、カンジダ菌数、血清 IgG 抗体価）の関連について検討する。

(2) 酸化ストレスと口腔微生物が高齢者の健康状態に与える影響の検討

酸化ストレスマーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) は比較的安定な物質で、生体内で代謝や分解されることがなく、活性酸素による生体損傷を鋭敏に反映する優れたバイオマーカーとされている。活性酸素は、細菌を排除する際にマクロファージから産生されることが知られており、口腔微生物叢の状態は 8-OHdG と関連する可能性が高い。本研究では、高齢者の口腔微生物（総菌数、歯周病関連菌数、カンジダ菌数、血清 IgG 抗体価）と唾液 8-OHdG との関連を検討する。また、唾液を検体として使用し、チェアサイドで即時測定できる酸化ストレスマーカーとして有望である酸化還元電位測定を実施し、8-OHdG と比較検討する。

(1)、(2)により、口腔微生物と認知症との関連を検討し、口腔ケアなどの口腔微生物制御が認知症の先制予防処置になる可能性について模索する。

3. 研究の方法

(1) 認知機能と口腔微生物の関係性についての検討

被験者は、平成 10～20 年度に 8020 健康調査の一環として実施された新潟高齢者研究の被験者のうち、本研究に同意した者を対象に平成 28 年から令和元年に各年 1 回の頻度で実施した。実施形態は平成 28 年、29 年、令和元年は家庭訪問、平成 30 年は会場健診により実施した。本研究に協力の得られた被験者は、平成 28 年度が 81 名、平成 29 年度が 56 名、平成 30 年度が 88 名、令和元年度が 49 名で、平成 28 年度～令和元年度の延べ人数は 274 名だった。認知機能検査は iPad 用認知機能スクリーニング検査「Cadi2」を用いて行い、認知検査スコアとした。Candida のサンプルは舌背を滅菌綿棒で 10 回拭ったものをクロモアガー培地に塗抹後培養したもののコロニー数をカウントし、Candida 属数とした。Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, Tannerella forsythia の菌数は、パラフィンガムを用いて刺激時唾液を採取後、測定まで -20 で保管し、リアルタイム PCR 法（サリバチェックラボ、GC 社、東京）により測定した。リアルタイム PCR で得られた値は log10 値に変換し、各菌数とした。健診時に反復測定された Cadi2 のスコア推移に関わる因子とその相互作用を一般化線形混合モデルにより解析した。また、平成 30 年度に実施した会場健診時に歯科医師により補綴治療の必要性について補綴治療の必要性について、上顎と下顎を別に 0：補綴の必要なし、1：1 歯の補綴（1 装置）2：複数歯の補綴（1 装置）3：複数補綴装置、4：総義歯とし、上下顎どちらか一方でも 1-4 と判断されたものを 1、上下顎共に 0：と判断されたものを 0 とする分類を行い、この各補綴必要度の結果と同日に行った認知検査スコアとの Spearman の相関係数を算出した。

(2) 酸化ストレスと口腔微生物が高齢者の健康状態に与える影響の検討

(1) の平成 28 年度被験者のうち 18 名を対象に採取後の唾液を -20 で保管し、測定時に氷上にて解凍後、8-OHdG 測定キット（日本老化制御研究所，静岡）を用いて測定を行った。8-OHdG 測定結果は、同日に行った認知検査スコアとの Spearman の相関係数を算出した。

(3) 3D プリンタ(CAD/CAM)を応用したオーダーメイド口腔清掃器具開発の試み

研究代表者は 3D プリンタ(CAD/CAM)を応用し、個人の歯列に合わせて作製するオーダーメイド口腔清掃器具の開発を試みた。口腔内スキャナを用いた光学印象採得を行った（Planmeca プランスキャン，GC 社，東京）。光学印象で得られた stl ファイルをもとに、補綴物作製時の個人トレー設計と同じように歯列周辺にスペースを設けた後、トレー内部に三角錐形のブラシ様突起を一定間隔で付し、左右中切歯間を中心に持ち手となる柄を設置する設計を歯科技工所に依頼した（(株)シケン，東京）。歯科技工所より得られた stl ファイルは、高精度 3D プリンタにより出力された（(株)キーエンス，大阪）。

4. 研究成果

(1) 認知機能と口腔微生物の関係性についての検討

平成 28 年から令和元年に実施した全 4 回の調査に参加した者のうち、3 回以上参加した被験者 33 名を抽出した。令和元年度には 12 名が脱落した。表 1 に Cadi2 による認知機能スクリーニング検査スコアのベースラインから 3 年後の推移を示す。ベースラインから認知検査スコアが低くなったのは、1 年後が 10 名（30.3%）、2 年後が 16 名（48.4%）だった。ベースラインから認知検査スコアが高くなったのは、1 年後が 9 名（27.3%）、2 年後が 13 名（39.4%）だった。

表 1 Cadi2 による認知機能スクリーニング検査スコアのベースラインから 3 年間の推移

| | | Cognitive functioning test score (Baseline) | | | | | |
|---|----|---|---|---|---|---|----|
| | | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Cognitive functioning test score (After one year) | 4 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 5 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| | 6 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 7 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | 8 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 2 |
| | 9 | 0 | 1 | 2 | 0 | 4 | 2 |
| | 10 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| drop out | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Cognitive functioning test score (After two year) | 4 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | 5 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 6 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | 7 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| | 8 | 0 | 1 | 2 | 0 | 2 | 2 |
| | 9 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| | 10 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 | 1 |
| drop out | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Cognitive functioning test score (After three year) | 4 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 6 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| | 7 | 0 | 2 | 0 | 1 | 3 | 0 |
| | 8 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| | 9 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | 10 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 |
| drop out | 1 | 2 | 2 | 1 | 4 | 2 | |

次に、認知検査スコアに影響を与える因子を一般化線形混合モデルにより解析した。その結果を表 2 に示す。認知検査スコアは *T. denticola* 菌数 (Coefficient= -0.032, P<0.01)、*Candida* 属数 (Coefficient= -0.025, P<0.01) であった。また、補綴治療の必要性和認知検査スコアに有意

表 2 一般化線形混合モデルによる認知スコア反復測定の結果

| | | Intercept (95%CI) | Coefficient (95%CI) | AIC |
|----------|---------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------|
| Bacteria | total bacteria | 2.154** (2.135 - 2.174) | 0 (0 - 0) | 1207.657 |
| | <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 2.155** (2.135 - 2.174) | 0 (-0.001 - 0.001) | 1203.007 |
| | <i>Treponema denticola</i> | 2.154** (2.127 - 2.180) | -0.032** (-0.032 - -0.032) | 1214.207 |
| | <i>Tannerella forsythensis</i> | 2.154** (2.134 - 2.173) | -0 (-0.000 - 0.000) | 1207.932 |
| | <i>Candida species</i> | 2.178** (2.159 - 2.196) | -0.025** (-0.033 - -0.016) | 1150.844 |

**P<0.01

な負の相関関係が認められた（上顎 $R^2=-0.399$ ，下顎 $R^2=-0.582$ ，全顎 $R^2=-0.655$ ， $P<0.05$ ）。

以上のことから、*T. denticola* 菌数、*Candida* 属数が口腔内に多く存在すると、認知検査スコアが低くなる可能性と、補綴装置を必要とする治療を受ける必要度が高いと認知検査スコアが低くなる可能性が示唆された。

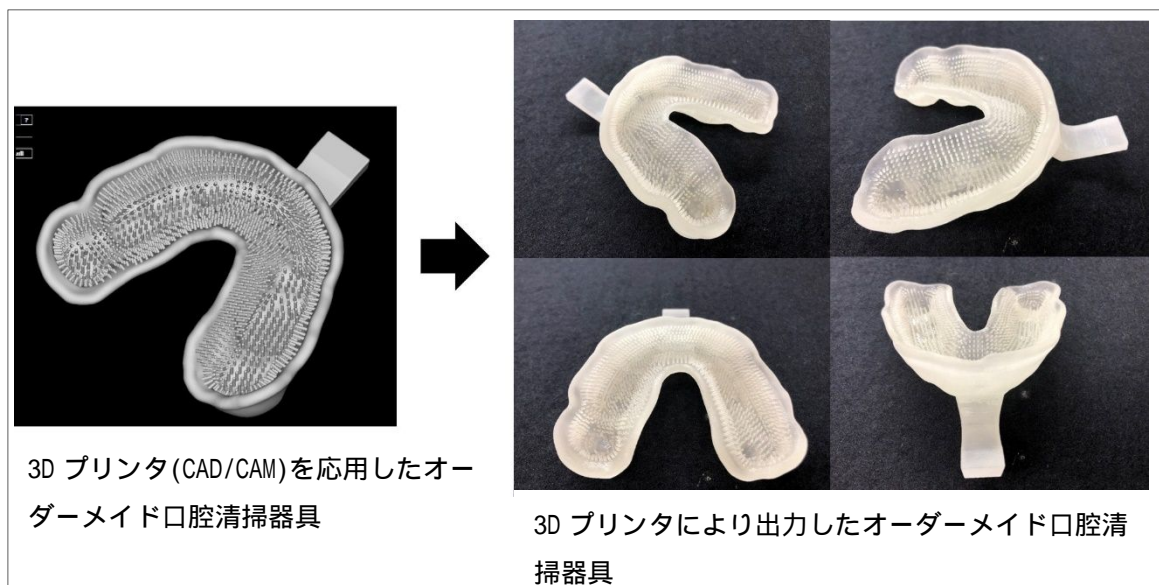
(2) 酸化ストレスと口腔微生物が高齢者の健康状態に与える影響の検討

(1)の平成28年度被験者のうち18名を対象に採取後の唾液 8-OHdG 測定を行った結果、認知検査スコアと唾液 8-OHdG 値の間に有意な相関は認められなかった。

(3) 3D プリンタ(CAD/CAM)を応用したオーダーメイド口腔清掃器具開発の試み

3D プリンタを応用したオーダーメイド歯ブラシ作製として、口腔内スキャナを用いた光学印象採得により得られたデータをもとにオーダーメイド歯ブラシを3D プリンタにより出力した結果、設計的には臨床応用可能と思われるオーダーメイド歯ブラシを得ることができた（図2）。しかし、3D プリンタ出力材料に臨床応用可能な材料が存在しないことが今後の改題であると考えられた。

図2 3D プリンタ(CAD/CAM)を応用したオーダーメイド口腔清掃器具作製の流れ



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 1件）

| | |
|--|------------------|
| 1. 著者名 Yoshiaki Nomura, Ayako Okada, Erika Kakuta, Takahide Gunji, Seiji Kajiura, Nobuhiro Hanada | 4. 巻 16 |
| 2. 論文標題 A New Screening Methods for Periodontitis: Alternative to the Community Periodontal Index | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 BMC Oral Health | 6. 最初と最後の頁 64 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12903-016-0216-x | 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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 角田衣理加、大島朋子、野村義明、花田信弘、前田伸子 |
| 2. 発表標題 高齢者の認知機能と口腔微生物の相関 |
| 3. 学会等名 第66回日本口腔衛生学会総会 |
| 4. 発表年 2017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 |
|-------|--|-------------------------------|---------------|
| 研究分担者 | 前田 伸子 (MAEDA NOBUKO) (10148067) | 鶴見大学・名誉教授・名誉教授 (32710) | 削除：2020年2月12日 |
| 研究分担者 | 大島 朋子 (OSHIMA TOMOKO) (50233101) | 鶴見大学・歯学部・学内教授 (32710) | |
| 研究分担者 | 花田 信弘 (HANADA NOBUHIRO) (70180916) | 鶴見大学・歯学部・教授 (32710) | |

