

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20692

研究課題名(和文) 口腔および腸内細菌叢の関連性の探索

研究課題名(英文) Compositional analysis in oral and gut microbiota

研究代表者

小川 泰治(Ogawa, Taiji)

大阪大学・歯学研究科・助教(常勤)

研究者番号：10543481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：細菌叢構成を比較したところ、自立高齢者に比べ要介護高齢者では唾液細菌叢に占めるActinobacteria, Firmicutes(門レベル)の割合が高く、Bacteroidetes, Fusobacteriaの割合が低かった。要介護高齢者では、自立高齢者に比べて門レベルにおける多様性が小さく、細菌叢の多様性が低下していた。一方、属レベルでの多様性指数の比較において両群に差は認められなかった。過去には、胃瘻者の口腔細菌叢の多様性が経口摂取者と比較して低いことが報告されており、本結果と所見が一致している。また、主成分による判別分析から、両者が互いに特徴的なクラスターを形成していることが示された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the salivary microbiota composition in samples from healthy and frail elderly individuals using 16S rRNA sequencing analysis for characterization. We found a significant difference in diversity between elderly individuals living in a nursing home (EN) and healthy control (HC) subjects, as well as in the microbiota composition at the phyla level. A supervised orthogonal partial least squared discriminant analysis (OPLS-DA) revealed a significant difference in clear classification trend between the EN and HC groups, with all observations falling within the Hotellings T² (0.95) ellipse, with model fitness parameters of R²(cum)=0.937 and Q²(cum)=0.888, respectively. In addition, the score plots by unsupervised principal component analysis (PCA) showed a clear classification trend in both groups. Our findings suggest that general frailty is associated with oral microbiota composition and formation.

研究分野：高齢者歯科

キーワード：口腔細菌叢

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会の到来により、わが国では肺炎により死亡する高齢者が急増し、厚生労働省の2011年人口動態統計によると、日本人の死因順位において肺炎が脳血管疾患を上回り第3位となった。近年、新型インフルエンザウイルス感染症や新型の多剤耐性菌による院内感染症が世界的に大流行し、感染症対策が再び注目を集めている。しかしながら、わが国の感染症対策は他の先進諸国からも大きく遅れをとり、諸外国からは「感染症後進国」などと揶揄される事態を招いている。今後、わが国では65歳以上の高齢者は増加の一途を辿り、2025年には約3300万人(全人口の27%)に達すると予測されており、肺炎による死者数も増加するであろうことは想像に難くない。

それにも関わらず、わが国の医学分野では、免疫、腫瘍や再生医療など特定の領域ばかりに研究対象が集中している。その結果、感染症対策は後手に回り、感染症が大流行してから初めて対策を講じるが、治療方法の確立はおろか治療に結びつく基礎的な研究成果の蓄積も不十分であるというのが現状である。肺炎の主な発症原因は肺炎球菌であるといわれており、わが国でも肺炎球菌に対するワクチンは既に1980年代後半から実用化されている。しかしながら、ワクチンの接種率は依然として低く、10%台にとどまっている。世界的にも、そしてわが国においても抗菌薬耐性肺炎球菌による感染が非常に多く、免疫力の低下した高齢者では重症化しやすく、死亡率も高い¹。高齢者の割合が増加する将来においては、他の疾病で入院した高齢者への院内感染や高齢者施設などでの水平感染が一層懸念される。

一方歯科領域では、口腔細菌叢に定着する肺炎起因細菌を口腔清掃で減少させると肺炎の発症率が低下することが以前より証明され、歯科領域から肺炎をコントロールできることが提唱されてきた²。高齢者の肺炎で最も多いのは誤嚥性肺炎であり、誤嚥性肺炎と口腔細菌叢は深い関連性を持っている。口腔内環境を改善することで肺炎の発症をコントロールできる歯科医師の社会的役割は、今後益々大きくなると考えられる。

口腔内には、700種類以上の微生物が口腔に固有の細菌叢を構成するといわれており、多数の微生物同士が複雑なネットワー

クを形成していると考えられる。一度形成された細菌叢は、口腔内環境の変化に応じて刻々とその姿を変えていると推察される。また、口腔に生存する微生物は、口腔内疾患のみならず種々の全身疾患を引き起こすことが報告されている。これまで我々は高齢者が口腔内に保有する肺炎原性微生物を調査し、口腔状態との関連について報告してきた。しかし、全身の健康状態や加齢、薬剤服用などに伴う細菌叢の変化、また口腔清掃が及ぼす細菌叢への影響などについては未だ不明な点が多く、口腔内細菌叢に影響を及ぼす宿主および環境因子の解明が急務である。本申請研究では、申請者が大学院および海外留学時代に習得した細菌学と分子生物学の知識をフィードバックし、臨床研究への応用が可能な口腔細菌叢の網羅的解析法の確立、および高齢者の口腔細菌叢に影響を与える宿主および環境因子の解明を目指す。

2. 研究の目的

本研究は、誤嚥性肺炎起炎菌のみならず、口腔細菌叢を構成する幅広い菌種をターゲットとする新たな解析法を用い、口腔細菌叢に影響する因子を疫学的に探索することを目指している。これまで、口腔細菌叢を構成する細菌種の解析や、口腔細菌叢に定着する病原性細菌をターゲットとした基礎研究および疫学研究は多数見られるが、未だ口腔細菌叢の全貌の解明には至っていない。口腔細菌叢の量的および質的評価を試みた研究は国内外で報告はなく、独創性に富んでいる。また、基礎研究(生物学的手法)と臨床研究(疫学的手法)を組み合わせた点も本研究の特色である。

3. 研究の方法

所属研究室が持つ疫学コホートをを用いて、自立高齢者16名、要介護高齢者15名(平均年齢はそれぞれ87.0±4.6, 84.2±7.7歳)から唾液を採取した。唾液から菌DNAを抽出し、次世代シーケンサーによるメタ16S rRNA解析を行った。また、食事記録をもとに摂取栄養素を算出し、両群間で比較した。これにより得られた細菌叢のデータを、歯科および栄養疫学調査により得られたデータと統合し、統計学的分析を行った。歯科および栄養疫学調査には、口腔機能検査(味覚・口腔感覚、咀嚼能率、咬合力、咀嚼時唾液分泌速度、嚥下機能評価)およ

び食品・栄養摂取と身体計測，血液検査，全身疾患および服用中薬剤の聴取，認知機能検査などが含まれていた。

統計学的分析には，歯科および栄養疫学調査の各項目と口腔の細菌叢との2変量間の関連，次いで多変量解析を用い，多数の口腔機能および食品・栄養摂取と身体計測，血液検査，全身状態の中から，口腔細菌叢のパラメータに有意な関連を持つ項目を抽出した。

4. 研究成果

細菌叢構成を比較したところ，自立高齢者に比べ要介護高齢者では唾液細菌叢に占める *Actinobacteria*, *Firmicutes* (門レベル) の割合が高く，*Bacteroidetes*, *Fusobacteria* の割合が低かった。要介護高齢者では，自立高齢者に比べて門レベルにおける多様性指数 (Shannon diversity index) が小さく，細菌叢の多様性が低下していた。一方，属レベルでの多様性指数の比較において両群に差は認められなかった。過去には，胃瘻者の口腔細菌叢の多様性が経口摂取者と比較して低いことが報告されており，本結果と所見が一致している。また，主成分による判別分析 (orthogonal partial least square method with discriminant analysis; OPLS-DA) から，両者が互いに特徴的なクラスターを形成していることが示された。摂取エネルギーあたりの摂取栄養素を比較した結果，自立高齢者に比べて要介護高齢者の各種ビタミン類 (ビタミン A, B₅, B₉, B₁₂, C, D, K), コレステロール，飽和脂肪酸 (パルミチン酸，アラキジン酸) の摂取量が少なかった。腸内細菌の研究分野では，食習慣により腸内細菌叢のプロファイルが異なることが報告されている。口腔細菌叢と摂取栄養素との関連を示す明確なデータはないが，摂取栄養素が口腔細菌叢の構成に影響を与えている可能性が得られた結果より示唆された。本研究において，要介護高齢者の唾液細菌叢を解析し比較したところ，自立高齢者の細菌叢とは異なるプロファイルを示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

1. Ogawa T, Hirose Y, Ogawa HM, Sugimoto M, Sasaki S, Kawabata S, Ikebe K, Maeda Y.

(2018) Composition of salivary microbiota in elderly subjects. *Sci Rep* **8**: 414.

2. Ogawa T, Ogawa HM, Ikebe K, Notomi Y, Iwamoto Y, Shirobayashi I, Hata S, Kibi M, Masayasu S, Sasaki S, Kawabata S, Maeda Y (2017) Characterizations of oral microbiota in elderly nursing home residents with diabetes: a pilot study. *J Oral Sci* **59**: 549-555.

3. Ogawa T, Ogawa HM, Ikebe K, Kawabata S, Maeda Y (2017) Microbiological assessment of effects of clinical mouth rinses on common oral microbes. *J Oral Sci* **59**: 391-395.

4. Ogawa T, Annear MJ, Ikebe K, Maeda Y (2017) Taste-related sensations in old age. *J Oral Rehabil* **44**: 626-635.

5. 小川泰治, 広瀬雄二郎, 本多真理子. 口腔細菌叢から健康を考える-口腔は腸管に次ぐ細菌叢の宝庫-. *Medical Science Digest*. ニューサイエンス社. Vol 43 (4): 5-7, 2017.

6. Ogawa T, Uota M, Ikebe K, Arai Y, Kamide K, Gondo Y, Masui Y, Ishizaki T, Inomata C, Takeshita H, Mihara Y, Hata K, Maeda Y (2017) Longitudinal study of factors affecting taste sense decline in old-old individuals. *J Oral Rehabil* **44**: 22-29.

7. Uota M, Ogawa T*, Ikebe K, Arai Y, Kamide K, Gondo Y, Masui Y, Ishizaki T, Inomata C, Takeshita H, Mihara Y, Maeda Y. (2016) Factors related to taste sensitivity in elderly: cross-sectional findings from SONIC Study. *J Oral Rehabil* **43**: 943-952.

8. Ogawa T, Uota M, Ikebe K, Notomi Y, Iwamoto Y, Shirobayashi I, Kibi M, Masayasu S, Sasaki S, Maeda Y (2016) Taste detection ability of elderly nursing home residents. *J Oral Rehabil* **43**: 505-510.

[学会発表](計 4 件)

1. Ogawa T, Honda M, Ikebe K, Kibi M, Kawabata S, Maeda Y. The Mouth Matters: Characterization of Oral Microbiota in Nursing Home Residents. The 21st International Association of Gerontology and Geriatrics World Congress, Jul. 24, 2017. San Francisco, CA, USA.

2. 小川泰治, 吉備政仁, 池邊一典, 前田芳信. 自立高齢者と要介護高齢者における口腔細菌叢の比較. 第28回日本老年歯科医学会学術大会 2017年6月14日, 名古屋.

3. Ogawa T, Ikebe K, Maeda Y. Longitudinal study of factors affecting taste sense decline in old-old individuals. The 6th

Japan-Thailand-Korea Joint Symposium.
Nov 31, 2016. Bangkok, Thailand.

4. Uota M, Ogawa T, Ikebe K, Kamide K, Arai Y, Gondo Y, Masui Y, Mihara Y, Ishizaki T, Maeda Y. Factors related to taste sensitivity in elderly: from SONIC Study. International Federation on Ageing 13th Global Conference, Jun 21-23, 2016. Brisbane, Australia.

〔図書〕(計 0 件)
該当事項なし

〔産業財産権〕
該当事項なし

〔その他〕
ホームページ等
該当事項なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

小川 泰治 (OGAWA TAJI)
大阪大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：10543481

(2)研究協力者

川端 重忠 (KAWABATA SHIGETADA)
大阪大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：50273694

前田 芳信 (MAEDA YOSHINOBU)
大阪大学・大学院歯学研究科・特任教授
研究者番号：10144510

池邊 一典 (IKEBE KAZUNORI)
大阪大学・大学院歯学研究科・准教授
研究者番号：70273696

小川 真理子 (OGAWA MARIKO)
大阪大学・大学院歯学研究科・特任研究員
研究者番号：20754732

広瀬 雄二郎 (HIROSE YUJIRO)
大阪大学・大学院歯学研究科・特任助教
研究者番号：90788407