

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：32650

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K09867

研究課題名(和文) 3つ子の魂百まで？低年齢児に対する食育の意義を口腔内細菌叢から検証する

研究課題名(英文) The significance of nutrition education for early childhood from the perspective of oral microbiota

研究代表者

櫻井 敦朗 (Sakurai, Atsuo)

東京歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：90431759

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では同一研究参加者の出生直後から試料を経時的に採取して、その細菌叢の変化を解析した。その結果、出産当日の口腔内にも属レベルで10程度からなる細菌叢が存在し、2歳頃までの早期のうち成人(両親)の細菌叢に近づき、その後は変化が小さくなっていくことを明らかにした。したがって、乳幼児期に健全な細菌叢を構築することが、その後の口腔・全身疾患のリスク低減や健康の維持に重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳幼児期は口腔の細菌叢の形成時期に当たる。そのためこの時期に適切な食習慣や生活習慣を通じ、正しい口腔内細菌叢を構築するための環境作りが、健全な顎口腔機能の育成に重要である。口腔内に形成される細菌叢はその地点または近い将来の口腔・全身疾患の罹患リスクを反映していると考えられるが、3歳未満で齲蝕が生じるような小児では、早期に食習慣の改善を図らなければ、その後生涯にわたって口腔疾患のリスクが高い状態が続きかねない。そのため適切な食習慣や生活習慣を早期に身につけることが望まれる。

研究成果の概要(英文)：In this study, samples were taken from the same participants immediately after birth over time and the changes of their microbiota were analysed. Our results showed that a microbiota consisting of about 10 at the genus level was observed in the oral cavity on the day of birth, and that it approached the adult microbiota in the early years up to approximately two years of age, after which the changes became smaller and smaller. Therefore, it was suggested that the establishment of a healthy microbiota in early childhood is important for reducing the risk of oral and systemic diseases in later life and for maintaining good health.

研究分野：小児歯科学

キーワード：齲蝕 小児 食育 細菌叢

1. 研究開始当初の背景

近年、食育という概念が注目されている。食育とは、様々な経験を通じて「食」に関する知識と「食」を選択する力を習得し、健全な食生活を実現することができる人間を育てることである。小児歯科の臨床では、主に齲蝕予防の観点から、治療に先立って「患児および保護者への小児歯科教育（母親教室・保護者教室）」を行ってきた。ここでは、齲蝕の発生メカニズムや間食の摂取状況が齲蝕の発生に大きく影響することなどについて指導が行われ、まさに食育推進の一環ともいえるものである。しかし、大学の小児歯科診療室における初診患児は4～8歳が最も多く、すでに重症齲蝕を発生している者も未だ頻繁に来院する。今後、小児歯科領域から小児の口腔・全身の健康を守る取り組みを行うには、3歳以下の小児や保護者に対し、早期に正しい食習慣・生活習慣を確立することの重要性を周知することが極めて重要である。

折しも、最近では次世代シーケンサーを用いて各臓器・組織の細菌叢の全貌を捉えようとする試みが多くなされるようになった。申請者もこれまで、小児齲蝕の有無によって口腔内細菌叢を比較する研究を行っている（図1）。小児の口腔内細菌叢を解析する研究はこれまでに行われているが、3歳以下の低年齢児を対象にしたものは少なく、さらに経時的な変化については解析がなされていない。

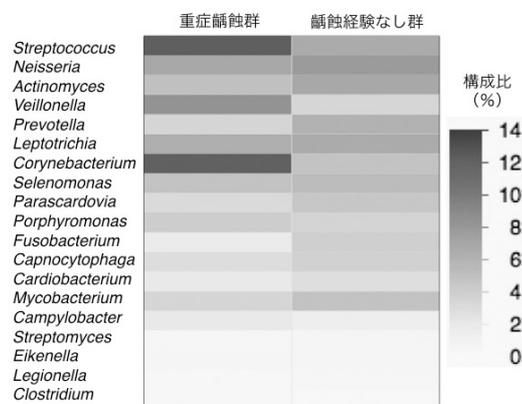


図1 代表者らによる口腔内細菌叢解析。図には属レベルの解析結果を示すが、重症齲蝕を有する小児は検出率の大きく異なる種が複数存在する。

2. 研究の目的

本研究では、低年齢の口腔内細菌叢形成過程において、食習慣や生活習慣状況がどの程度影響を与えるのかということ解析した。

食育基本法に基づき、政府が打ち出した第3次食育推進基本計画（平成27年）によると、重点課題として若い世代に対する食育推進、妊産婦や乳幼児に関する栄養指導というものが挙げられている。これは小児・乳幼児からではなく、母親の妊娠中から、小児への食育に関する意識を高めようとする意図が読み取れる。しかし一方で、食育の推進という概念が抽象的なものであり、計画に記載されているような食生活習慣を実践したとしてどのように生活の質の向上が期待できるのかについての言及は少ない。そこで本研究では、近年注目を増している食育を低年齢から推進することの意義について、微生物学の観点から最新の技術を用いて解析し、新規かつ客観的な「エビデンス」を見出したいと考えた。

さらに、乳歯列完成前期・乳歯列期で齲蝕に罹患した小児を対象とし、ひとたび疾患発症リスクの高い口腔内細菌叢が形成された場合に、必要な齲蝕治療や予防指導を行うことで、どの程度改善できるのかについても検討を加えた。

3. 研究の方法

1) 被験者の選定、試料の採取

申請者の所属する小児歯科診療室に来院した0～1歳児、合計20名程度を対象とし、保護者に対する十分な説明と同意の上で唾液および舌スワブ標本を採取した。被験者の現在歯、口腔内清掃状態や齲蝕・歯肉の状態は採取のたびに記録した。また、被験者の生活習慣や食習慣についての記述調査を定期的に行った。採取開始は出生後できるだけ早い時期とし、採取間隔は3か月おきを基本とした。採取期間は3年を目安として行った。

齲蝕を有する小児の対象者として、3～5歳児の歯科治療や指導を行う前後の試料を採取し、齲蝕のない小児の細菌叢との比較のために用いた。

2) 細菌由来ゲノムおよびRNAの抽出、口腔内細菌叢解析

得られた試料から細菌由来のTotal nucleic acid (TNA)を抽出して解析に供した。得られたゲノムDNAをテンプレートとして、細菌の16S rRNA遺伝子の一部配列の増幅を行い、次世代シーケンサーMiSeq (Illumina社)によって遺伝子シーケンスを行った。得られた配列はウェ

ブ上のデータベース Silva, Human oral microbiome database (HOMD)と照合して細菌種を推定した。

3) 分類した群間の細菌叢パターンの比較、特異的に存在する菌種のピックアップ

同一被験者の各試料間およびI項で分類された各群間における比較を行い、各群に共通で多く含まれる菌種、一方の群に高頻度に認められる菌種のピックアップを試みた。また細菌叢のパターンを分析し、系統樹を作成した。

4) 介入効果の解析

齲蝕のある小児については治療や必要な指導の終了後に再度同部位の資料を採取し、細菌叢の変化を解析するほか、対照群の小児の細菌叢とも比較を行った。ミュータンスレンサ球菌だけでなく、齲蝕の多い患者で多く検出される種については検出頻度の詳細な検討を行い、口腔内の状況も記録して、介入の効果を測定した。

4. 研究成果

出生直後から継続的に唾液および舌背のスワブサンプルを採取し、細菌叢の形成過程を解析した。得られた遺伝子データから、どのような細菌が存在しているかを推定したところ、検出種数は2歳までに大きく増加して成人（対象者の小児の両親）との有意差はなくなり、その後の変化は小さくなった(図2)。また、検出種数だけでなく各々の細菌構成がどの程度類似しているかを算出すると、新生児から時間の経過にしたがって成人に近似していく傾向があり、2歳児と成人の検体間の類似度の平均は、成人の検体間の類似度の平均と比較しても有意差のない水準となった。さらに詳細な種レベル・菌株レベルでは2歳以降もまだ変化が続いていると考えられるため、更なる検討も必要である。しかしこの結果から、出生から2歳までの生活習慣や食生活が、ヒトの口腔内細菌叢の大部分を決定しており、その後早期に大きな改善が図られなければ、長い人生における齲蝕や歯周病、口腔内細菌叢が関与する疾患の発生リスクに強い影響を与えるのかもしれないと考えている。

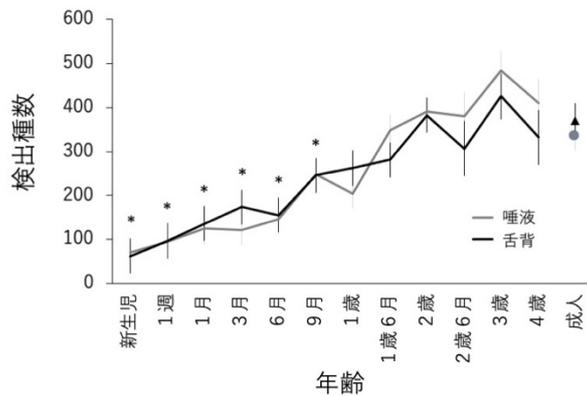


図2 出生児から4歳まで経時的に採取した試料から検出された細菌種（分類群）数。

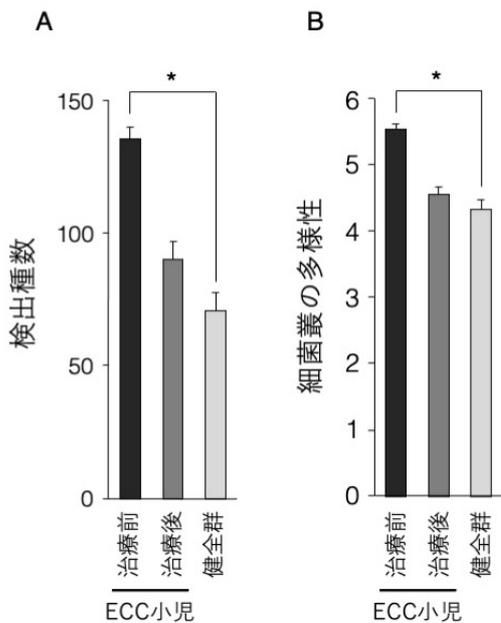


図3 小児に対して歯科治療および必要な指導を行なった前後の細菌叢の変化。

次に歯科での治療開始前と、必要な治療および指導の終了後に、小児1人あたり乳臼歯頬側および舌側の各8歯面から歯肉縁上プラークを採取し、細菌叢の解析比較を行った。齲窩を形成している歯面と治療後の歯面とは当然細菌叢は異なるため、治療開始時に齲窩を生じている歯面からの採取は行っていない。その結果、種レベルでの検出数、細菌叢の多様性を示す指数 (Shannon Index) はともに、ECC小児群の治療前試料で最も多く、続いて治療後試料、健全群の順となり、歯科治療および必要な指導を行うことで、健全群と有意差がないレベルまで減少した(図3)。次に試料間の細菌叢の差異を解析したところ、例外も多くあるが、各グループともに一定の範囲に多くの試料が集まってプロットされ、同じ条件の試料では細菌叢が近いことが示された。特に、治療前試料と治療後試料は離れたところにプロットされているものが多く、細菌叢が大きく変わっていた。一方で、治療後試料と健全群の試料が概ね近い位置にプロットされており、この2つの条件は比較的細菌叢が類似していることが示された。ただし被験者によって細菌叢の変化の度合いは大きく異なっており、治療前後で大きく変化し健全群の細菌叢に近づいた者がいる一方で、ほとんど変化が見られなかった者も約30%いた。

齲蝕発生リスクの高い小児の細菌叢は、歯科治療や必要な指導を行うことで改善できるケースが多いが、なかには細菌叢を改善できない場合もあるようである。実際の臨床でも、治療と指導を繰り返してもなお、新たな齲蝕の発生を抑えられない小児が少なからずいる。それは、家庭で保護者が小児の口の状況に関心を持つ余裕がない、生活習慣をなかなか変えられないといった背景がある場合もあるだろう。しかし、そうした小児に対して齲蝕リスクを低下させるための新たなアプローチを得るために、今後も検討を加えていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kikuchi Mariko, Kadena Miki, Fukamachi Haruka, Takaki Takashi, Matsui Shohei, Hoashi-Takiguchi Sumire, Morisaki Hirobumi, Trtic Natasa, Mori Mina, Kurosawa Mie, Itsumi Momoe, Funatsu Takahiro, Sakurai Atsuo, Shintani Seikou, Kato Hiroki, Fujita Takashi, Maruoka Yasubumi, Kuwata Hirota	4. 巻 8
2. 論文標題 Melatonin suppresses the antiviral immune response to EMCV infection through intracellular ATP deprivation caused by mitochondrial fragmentation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e11149 ~ e11149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heliyon.2022.e11149	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 該当する
1. 著者名 Imai Hiroki, Sakurai Atsuo, Shintani Seikou	4. 巻 63
2. 論文標題 Reconsideration of Leeway Space Calculated Using Models from Same Patients at Different Growth Stages	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Bulletin of Tokyo Dental College	6. 最初と最後の頁 167 ~ 175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2209/tdcpublication.2021-0046	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 -
1. 著者名 中内彩乃、荒井亮、田中亜生、根本研吾、岡田紗弥佳、青柳翠、安部晴美、櫻井敦朗、今井裕樹、新谷誠康	4. 巻 59
2. 論文標題 千葉県内の小児歯科診療所に来院した患児における歯磨剤の利用状況に関する調査	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 小児歯科学雑誌	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Nagai Nobuko, Homma Hiromi, Sakurai Atsuo, Takahashi Naoko, Shintani Seikou	4. 巻 6
2. 論文標題 Microbiomes of colored dental biofilms in children with or without severe caries experience	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Dental Research	6. 最初と最後の頁 659 ~ 668
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cre2.317	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 Tashiro Ayako, Sakurai Atsuo, Yonezu Takuro, Kumazawa Kaidou, Shintani Seikou	4. 巻 62(2)
2. 論文標題 Caries and its association with infant feeding and oral health-related behaviors in 18-and 36-months old Japanese children	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bulletin of Tokyo Dental College	6. 最初と最後の頁 71-87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 富永早紀、田中亜生、根本研吾、濱口翔一、田村梨恵、棚瀬稔貴、櫻井敦朗、辻野啓一郎、新谷誠康	4. 巻 58
2. 論文標題 大学病院小児歯科における初診患児の実態調査および乳歯列期齲蝕罹患状況 東京都と千葉県の比較	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 小児歯科学雑誌	6. 最初と最後の頁 49～54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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21件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 太田大聖、櫻井敦朗、本間宏実、永井宜子、樺澤由佳李、新谷 誠康
2. 発表標題 小児齲蝕リスクの高い口腔内細菌叢は、歯科治療や指導を通じて改善できるのか？
3. 学会等名 第60回日本小児歯科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 太田大聖、櫻井敦朗、本間宏実、永井宜子、新谷誠康
2. 発表標題 乳歯齲蝕治療によって口腔内細菌叢は改善するか
3. 学会等名 第36回日本小児歯科学会関東地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 太田大聖、櫻井敦朗、本間宏実、永井宣子、樺澤由佳李、新谷誠康
2. 発表標題 小児齲蝕リスクの高い口腔内細菌叢を改善するアプローチの検討
3. 学会等名 第312回東京歯科大学学会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中亜生、小島健太郎、棚瀬稔貴、本間宏実、櫻井敦朗、新谷誠康
2. 発表標題 Mineral trioxide aggregateによる生活歯髄切断後のdentin bridge形成に関する組織学的研究
3. 学会等名 第59回日本小児歯科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田村梨恵、富永早紀、根本研吾、棚瀬稔貴、田中亜生、辻野啓一郎、櫻井敦朗、新谷誠康
2. 発表標題 最近の大学病院における低年齢児の齲蝕罹患状況
3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 濱口翔一、櫻井敦朗、本間宏実、田中亜生、田村梨恵、辻野啓一郎、大多和由美、海老根由梨、若林真由美、新谷誠康
2. 発表標題 小児のフッ化物配合歯磨剤の使用状況に関するアンケート調査 来院動機による分類比較
3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sakurai Atsuo, Homma Hiromi, Nagai Nobuko, Ota Taisei, Shintani Seikou
2. 発表標題 The Initiation and development of oral microbiome formation in Japanese healthy infants
3. 学会等名 the 68th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 櫻井敦朗、新井敬、本間宏実、太田大聖、永井宜子、新谷誠康
2. 発表標題 低年齢児と保護者の口腔内細菌叢の類似性
3. 学会等名 第34回日本小児歯科学会関東地方会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中内彩乃、荒井亮、青柳翠、田中亜生、安部晴美、櫻井敦朗、今井裕樹、新谷誠康
2. 発表標題 千葉県内の小児歯科診療室における小児の歯磨きに関する実態調査
3. 学会等名 第57回日本小児歯科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 海老根由梨、櫻井敦朗、本間宏実、田中亜生、太田大聖、田村梨恵、濱口翔一、辻野啓一郎、若林真由美、新谷誠康
2. 発表標題 都心の大学病院小児歯科における来院患児のフッ化物配合歯磨剤使用実態について
3. 学会等名 第57回日本小児歯科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富永早紀、田中亜生、根本研吾、濱口翔一、田村梨恵、櫻井敦朗、辻野啓一郎、新谷誠康
2. 発表標題 2016年から2018年における 歯科大学病院小児歯科初診患者の実態調査
3. 学会等名 第37回日本小児歯科学会北日本地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新井敬、桜井敦朗、本間宏実、永井直子、新谷誠康
2. 発表標題 乳幼児の口腔内細菌叢の出生時からの経時的変化
3. 学会等名 第56回日本小児歯科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新井敬、桜井敦朗、本間宏実、永井直子、新谷誠康
2. 発表標題 乳幼児における口腔内細菌叢の確立までの経時的解析
3. 学会等名 第306回東京歯科大学学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計10件

1. 著者名 櫻井敦朗、新谷誠康	4. 発行年 2020年
2. 出版社 ヒョーロン・パブリッシャーズ	5. 総ページ数 2
3. 書名 歯学の行方 イオン飲料を通じてう蝕予防を考える 日本歯科評論	

1. 著者名 櫻井敦朗	4. 発行年 2020年
2. 出版社 ヒョーロン・パブリッシャーズ	5. 総ページ数 10
3. 書名 乳歯の歯内療法 健全な後継永久歯との交換につなげるには？ 日本歯科評論	

1. 著者名 本間宏実、櫻井敦朗、新谷誠康	4. 発行年 2019年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 25
3. 書名 かかりつけ歯科医のための小児歯科ガイドブック	

1. 著者名 櫻井敦朗	4. 発行年 2019年
2. 出版社 永末書店	5. 総ページ数 18
3. 書名 小児歯科学ベーシックテキスト第2版	

1. 著者名 櫻井敦朗	4. 発行年 2019年
2. 出版社 永末書店	5. 総ページ数 4
3. 書名 小児歯科学クリニカルテキスト第2版	

1. 著者名 櫻井敦朗	4. 発行年 2019年
2. 出版社 デンタルダイヤモンド	5. 総ページ数 2
3. 書名 小児歯科のレベルアップ&ヒント	

1. 著者名 櫻井敦朗、安部晴美	4. 発行年 2018年
2. 出版社 永末書店	5. 総ページ数 21
3. 書名 第17章 う蝕の予防処置と進行抑制、歯科衛生士講座 小児歯科学	

〔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	新谷 誠康 (SHINTANI SEIKOU) (90273698)	東京歯科大学・歯学部・教授 (32650)	
研究分担者	本間 宏実 (HOMMA HIROMI) (80637760)	東京歯科大学・歯学部・講師 (32650)	

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
---------	---------

ボスニア・ヘルツェゴビナ	University of Banja Luka			
--------------	--------------------------	--	--	--