

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17146

研究課題名（和文）慢性腎臓病感染症発症における口腔内細菌叢からの理解

研究課題名（英文）Understanding from oral flora in CKD

研究代表者

小山 絵理（KOYAMA, Eri）

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号：60779437

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本邦の慢性腎臓病患者は年々増加し、CKD患者の生命予後や合併症発症と口腔健康が関連することが報告され、口腔と腎機能の関係が注目されている。そこで本研究では、透析患者の咀嚼機能や、歯周疾患等の口腔内環境と本疾患の病態悪化や感染症の発症との関連を明らかにすることを目的とした。1年間のシャント感染患者24名のうち、自己血管感染が2名、遺残グラフト感染が1名、人工血管感染が21名だった。また、人工血管を使用したシャントでは、その70%が移植から3年以内に発症していることが明らかとなった。一方、歯科介入の導入前後で比較すると、人工血管感染の発症頻度は10%減少していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本申請研究により、口腔内細菌叢および口腔内環境が慢性腎臓病の重症化や合併症のリスク因子であることが解明されれば、歯科治療の介入が腎疾患患者の生命予後やQOLの改善に貢献できることを強く示唆することが可能となる。その結果、全世界的にも増加の一途をたどっている慢性腎臓病に対し、歯科界から一石を投じることになり、医学界に大きな影響を与えることは想像に難くない。さらに、透析時の致命的合併症であるシャント感染の起因菌が同定されれば、シャント感染の発症予防や発症後の適切な抗菌療法にも繋がり、医療界に与える影響は絶大である。

研究成果の概要（英文）：In our country, the chronic kidney disease (CKD) patients increase year by year, and it has been reported that health is related to life prognosis and the onset of complications in CKD patients, and the relationship between oral and kidney is garnering a lot of attention. Therefore, the goal of this study is to clarify whether the masticatory function and the oral environment in dialysis patients are involved in the CKD aggravation and the onset of infectious diseases.

Out of 24 patients with shunt infection, autologous vascular infection was 2 cases, residual graft infection was 1 case, and artificial vascular infection was 21 cases. 70% of patients transplanted artificial blood vessels developed within 3 years after transplantation. On the other hands, the incidence of vascular infection was reduced by 10%, before and after dental intervention.

研究分野：補綴系歯学関連

キーワード：歯学 口腔内細菌 慢性腎臓病 感染シャント 16sRNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

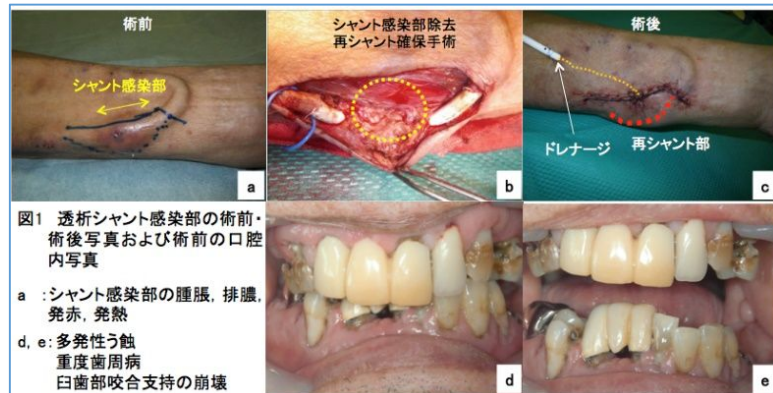
1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病 (chronic kidney disease: CKD) という疾患概念は、2002 年に米国腎臓財団によって提唱され、近年、透析を必要とする末期腎不全患者が顕著に増加し医療経済を圧迫していることから大きな社会問題となっている。本邦における CKD 患者は、2014 年時点で 1330 万人で、慢性透析患者は 32 万人を超え、台湾に次いで世界第 2 位である。

CKD 患者の口腔健康に関するシステマティックレビューによると、CKD 患者の重度歯周病と心血管疾患や総死亡が関連する可能性が指摘されている。しかし、歯周病と CKD は、生活習慣といったリスクファクターを共有していること、質の高い縦断研究がないことから、その因果関係は明らかではない。また、CKD 患者の咀嚼機能と食事・栄養摂取との関連、腎機能の悪化や心血管障害発症との関連を明らかにした報告は世界的にも存在しない。

さらに最近、口腔内細菌と全身疾患の関与が多く報告されるようになった。例えば、歯周病原性細菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* などの偏性嫌気性グラム陰性細菌が構成するバイオフィルムが、心血管系の炎症を惹起し、動脈硬化に進展し得ること、腸内に定着することで腸内細菌叢を大きく変化させ、リウマチなどの全身的な炎症を引き起こすことが報告され、口腔内環境と全身疾患発症メカニズムとの関係が注目を集めている。

透析患者においても、感染症の発症割合は年々増加し、現在、死亡原因の第 2 位である。特に、透析導入して間もない患者が感染症で死亡するケースが多いが、未だその原因は不明である。慢性透析患者においては、血液透析のために上肢の動脈と静脈を外科的に吻合する血管内シャントが必要不可欠であり、90%以上の患者が使用している。しかし、合併症としてシャント感染を起こすことがあり、時に致死的な敗血症に進展する(図 1)。最近になり、透析専門病院で口腔衛生管理を導入したところ、血液検査時の C 反応性タンパク(CRP)値が低下し、シャント感染の頻度が下がったという事例や、シャント感染患者に嫌気性歯周病菌に効果のある抗菌薬(カルバペネム、第 4 世代セフェム)を投与すると予後良好であったという事例が報告され、シャント感染の起因菌として口腔内細菌が疑われている。



しかし、透析シャント感染

の起因菌やその感染経路は未だ不明である。実際、これらの患者のシャント感染部は、外界とは交通しておらず、口腔内細菌が血行性に感染した可能性が推測される。また、未だ口腔内環境と CKD の病態悪化との因果関係は明らかではない。

2. 研究の目的

本申請研究は、これまでに研究で抽出された菌が起因菌であることを確認すると共に、口腔内細菌のシャントへの感染経路を明らかにし、CKD 患者の口腔内細菌叢および咀嚼機能や歯周疾患等の口腔内環境と CKD の病態悪化や感染症発症との因果関係を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

倫理審査委員会の承認を得た上で、研究協力病院の腎臓内科にて、透析患者の診療録調査を行い、シャント感染を発症した患者と発症しない患者の臨床データを収集した。調査項目は、年齢、透析歴、糖尿病合併状況、透析シャントの種類、シャント植え込みからシャント感染発症までの期間、使用抗生剤、シャント感染再発の有無、生命予後、対象患者の歯科介入状況とした。

また、シャント感染患者から外科的に摘出した感染シャントおよび唾液、プラークを採取し、得られた臨床検体は、細菌叢構成の維持のため、迅速に嫌気パックを行い、凍結保存した。解析の際、臨床検体から DNA を抽出し、16SrRNA の V4 領域の増幅後、ライブラリーを作製し、Illumina 社の

MiSeqにてシーケンスを行った。取得したリードをデータベースにマッピングし、系統分類を行った。また、主成分解析にて、どのサンプル間の細菌叢が類似しているか検討した。一方、16SrRNA解析では、細菌の種の同定には至らない。そこで、口腔内に多く存在するストレプトコッカス属のどの種の細菌が感染シャントに存在するか、ストレプトコッカス属のいくつかの種に特異的なPCR用のプライマーを設計し検討した。

4. 研究成果

研究協力病院の腎臓内科にて、透析シャント感染患者の診療録調査を行った結果、2年間のシャント感染患者41名(平均年齢:64.0歳,平均透析期間:9.6年,糖尿病合併率:44%)のうち、自己血管感染が4名,遺残グラフト感染が6名,人工血管感染が31名と人工血管感染が最も多かった。また、人工血管を使用したシャントの初発感染例では、その70%が植え込みから3年以内に発症していることが明らかとなった(図2)。シャント感染様式は、穿刺部感染が26名(62%)であった。シャント抜去術式は、シャント部分置換が35名(85.4%),シャント全抜去が1名(2.4%),遺残シャント抜去が5名(12.2%)であった。

さらに、歯科医師・歯科衛生士による包括的な歯科介入(歯周治療,補綴治療,う蝕治療,抜歯等)の導入前後で比較すると、人工血管感染の発症頻度は10%減少し、25ヶ月間のシャント感染の再発率は、包括的歯科介入群で有意に少なかった。(図3)。

細菌解析の結果、歯科介入の導入後にシャント感染を発症した患者の血液および感染シャントから検出された細菌は、歯科介入導入前と比べてメチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)の割合が増加していた(図4)。

また、16SrRNA解析の結果、口腔内の唾液と感染シャントの細菌叢が類似している臨床検体がいくつかあった。その中で、口腔内に多く存在するストレプトコッカス属が感染シャントから検出されたサンプルが存在した。そこで種の同定のため、PCR法にて解析を行った。その結果、図5に示す3つのストレプトコッカス属が感染シャントに存在することが明らかとなった。また、他にも口腔内に特異的に存在する歯周病関連の細菌が存在する。

以上の結果より、シャント感染患者の一部は、口腔内の細菌が原因で感染した可能性が示唆された。

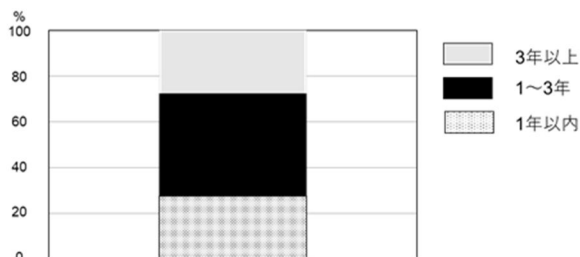


図2. 人工血管植え込みから初発感染までの期間

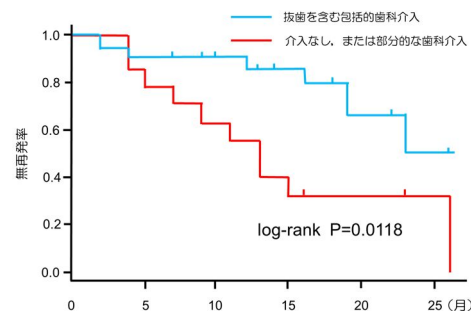


図3. 歯科介入の有無とシャント感染の再発率

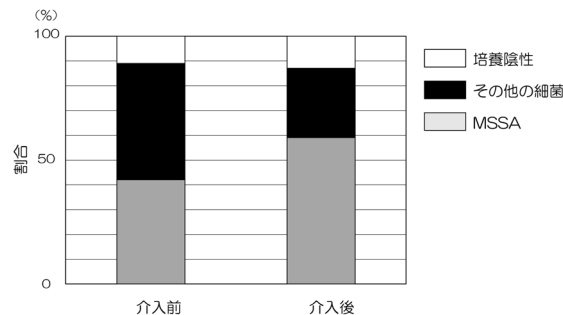


図4. 歯科介入前後での感染シャントの細菌分布

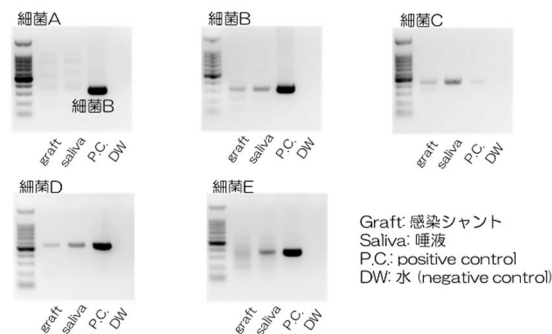


図5. PCR結果 (ストレプトコッカス属)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大森 江, 大野充昭, 大野 彩, 後藤和義, 天野友貴, 水口真実, 小山絵理, 黒崎陽子, 松下 治, 窪木拓男, 大橋俊孝
2. 発表標題 腸内エコシステムの観点からのフレイルの病態理解
3. 学会等名 第8回補綴若手研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 沼本 賢, 大野 彩, 三野卓哉, 逢坂 卓, 黒崎陽子, 小山絵理, 中川晋輔, 徳本佳奈, 樋口隆晴, 前川賢治, 窪木拓男
2. 発表標題 要介護高齢者の口腔形態要素を評価する歯列崩壊指数の考案と信頼性・妥当性の検討
3. 学会等名 日本補綴歯科学会第128回学術大会
4. 発表年 2019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
研究協力者	窪木 拓男 (KUBOKI Takuo)		
研究協力者	大野 彩 (ONO Aya)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	大野 充昭 (ONO Mitsuaki)		
研究協力者	大原 直也 (OHARA Naoya)		