

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：15401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K24121

研究課題名（和文）矯正歯科治療患者の細菌叢変化を含む口腔内環境変化の解明と新たな予防システムの構築

研究課題名（英文）The elucidation of change of oral ecosystem including dynamics of microbiome by orthodontic treatment and building a new prevention system

研究代表者

角 伊三武（Kado, Isamu）

広島大学・医系科学研究科（歯）・助教

研究者番号：50846847

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究により、歯並びを改善するための矯正歯科治療を受ける患者さんの、口の中に生息する細菌の動態の一部が明らかとなりました。具体的には、取り外しの出来ない矯正装置を口の中に装着すると、歯肉炎を引き起こす細菌が優位になっていました。また、細菌だけではなく、唾液の量や、虫歯になりやすい環境かどうかなど、様々なことが性別や年齢によって異なることも明らかとなりました。これらは、矯正歯科治療を受けている患者の、虫歯や歯周病の予防に役立つと考えられます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、唾液やプラークを採取し、その量や性質を分析することで行われました。細菌学的な分析には次世代シーケンサーを使用し、菌種を特定せず網羅的に解析しました。矯正歯科治療を受けている患者を対象とした研究では、この手法を用いたものはまだ少ないため、高い学術的価値を有すると考えられます。

研究成果の概要（英文）：This study reveals some of the dynamics of the bacteria that live in the mouth of patients undergoing orthodontic treatment to improve malocclusion. Specifically, when the fixed orthodontic appliance was attached to the surface of teeth, the bacteria that cause periodontitis tend to be dominant. It was also clarified that not only bacteria but also various things such as the amount of saliva and whether the environment is prone to tooth decay differ depending on gender and age. These may help prevent tooth decay and periodontal disease in patients undergoing orthodontic treatment.

研究分野：矯正歯科学

キーワード：矯正歯科治療 細菌

## 1. 研究開始当初の背景

口腔内には、700種以上の細菌が生息しており、大腸に次ぐ巨大な細菌叢を形成している。また、口腔内でも表面の微細構造の違いによって、歯・舌・頬粘膜などで形成される細菌叢は異なることが知られている。マルチブラケット装置は、歯の三次元的移動が可能な事から、矯正歯科治療において近年広く応用されているが、う蝕・歯肉炎など細菌感染性の医原性障害を伴うことがある。その要因として、マルチブラケット装置の装着によって清掃困難となり、バイオフィルムの蓄積・成熟が進み、細菌叢が変化することが推測されてきた。以前の研究報告では、矯正装置を装着することで、う蝕原因菌である *Streptococcus mutans*, *Campylobacter rectus* や、歯周病原菌である *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella nigrescens* が増加することが示唆されている。しかし、これらの先行研究は、培養法などを用いた特定の菌種のみを対象としているため、培養困難な細菌を含む細菌叢全体の変遷については明らかにされていない。近年、細菌叢全体は一つの有機体として考えられており、各細菌は代謝経路などを複雑に相互作用することが示唆されている。我々の研究グループは、マルチブラケット装置装着前後で口腔内細菌叢がどのように変化するかを解明するため、矯正歯科治療患者より唾液・歯肉縁上プラークを採取し、次世代シーケンサー (Miseq, Illumina) を用いて細菌 16S rRNA メタ解析を行ってきた。しかし、矯正歯科治療中における、臨床パラメーターを含む大規模かつ長期的な細菌叢変化は解明されておらず、各治療ステージにおける新たなリスク管理法や矯正歯科治療中に発生するう蝕・歯肉炎といった医原性障害の新規予防法は未だ確立されていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、矯正歯科治療中における長期的で大規模な細菌叢解析について次世代シーケンサーを用いて解析する。また、不正咬合と細菌叢および唾液検査も含めた臨床パラメーターとの関連性も検討する。そして、矯正歯科治療中の細菌感染によるう蝕・歯周病等の医原性障害リスクを事前に予測し、リスク評価に基づいた新規矯正歯科治療予防管理法を確立することを最終的な目標とする。過去の研究は、従来の細菌学的実験手法である培養法やPCR法など、特定の菌種に限局したものであった。本研究は、矯正歯科治療患者における口腔内細菌叢の変化について、次世代シーケンサーを用いて網羅的に解明する点において、高い独自性を有していると考えられる。今後、サンプリングを大規模で長期にわたり調査することにより、患者の臨床パラメーターも解析に加えることで、詳細な細菌叢変化と治療中に起きうるう蝕・歯周炎発現のリスク予測を明らかにする点、新規予防管理法の構築を目指す点において創造性を有している。さらに本研究の臨床応用は、診断時に患者の口腔細菌叢を把握し、医療の個別化を図ることを可能とする。これらは矯正歯科治療の質を向上させると期待される。

## 3. 研究の方法

研究期間を通して、歯肉炎に罹患していない等の条件を満たし同意を得られた初診患者よりサンプリングを行う。治療終了時以降についても、保定開始数年後までの一定期間に渡って長期的な菌叢解析を行う。また臨床情報を収集し臨床応用の為の予防システムを構築する。本研究は、広島大学「医の倫理に関する規定」に基づき、第 1645 号取得の上で施行される。得られたサンプルより細菌 DNA を抽出し、16S rRNA の V1-V2 領域をターゲットとしたメタゲノム解析を行う。臨床パラメーターとして、DMF 歯数、PPD(Probing pocket depth)、BOP(Bleeding on probing)、PCR(Plaque control record)及びカリエスリスク検査(唾液流出量、唾液緩衝能、唾液 pH、*Streptococcus* counts、*Lactobacillus* counts)を全ての患者から収集する。口腔細菌叢とう蝕・歯肉炎罹患率や唾液性状についての比較検討を行う。

#### 4 . 研究成果

矯正装置装着前後では菌叢が変化することが明らかとなった。さらに、その変化の主体は、歯周病原菌などの嫌気性細菌の増加と、常在菌を含む好気性細菌の減少であることを説明した。OUT解析及び $\alpha$ 多様性の結果より、矯正装置装着によって、生息菌種数が増加する傾向を示すことが明らかとなった。それは特にプラークで顕著であった。門レベルの解析より、プラーク・唾液の両者においてもTM7の有意な増加とProteobacteriaの有意な減少が認められた。プラークにおいては、Bacteroidetesが大幅に増加し、Proteobacteriaとほぼ同等の占有率に達していた。相対的存在比の増加を示したこれらの細菌は、全て変形嫌気性または通性嫌気性菌であり、そのうちいくつかは歯周炎との関連が報告されている細菌であった。

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 Kado Isamu, Kunimatsu Ryo, Yoshimi Yuki, Medina Cynthia Concepcion, Yamada Sakura, Tanimoto Kotaro	4. 巻 11
2. 論文標題 Surveillance of salivary properties of pre-orthodontic patients in relation to age and sex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6555
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-85861-8	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 角 伊三武、吉見 友希、國松 亮、山田 桜、Cynthia concepcion Medina、岩井 宏次、谷本 幸太郎
2. 発表標題 広島大学病院矯正歯科受診患者におけるカリエスリスク検査に関する調査
3. 学会等名 中・四国矯正歯科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 角 伊三武、久恒 順三、小泉 祐真、谷本 幸太郎、菅井 基行
2. 発表標題 マルチブラケット装着により起こる唾液細菌叢変化の検討 次世代シーケンサーを用いた16SrRNAメタ解析
3. 学会等名 日本矯正歯科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉見 友希、角 伊三武、山田 桜、岡田 美穂、徳井 文、國松 亮、小川 郁子、谷本 幸太郎
2. 発表標題 広島大学病院矯正歯科受診患者の唾液分泌量と顎顔面病態との関連
3. 学会等名 日本矯正歯科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田 美穂、國松 亮、吉見 友希、角 伊三武、山田 桜、徳井 文、北川 雅恵、谷本 幸太郎
2. 発表標題 広島大学病院矯正歯科受診患者における唾液を用いたカリエスリスク検査に関する検討
3. 学会等名 日本矯正歯科学会
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

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