

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K24123

研究課題名（和文）機械的舌清掃が舌マイクロバイオームの細菌構成に与える影響の科学的根拠の確立

研究課題名（英文）The establishment of scientific basis for the effects of mechanical tongue cleaning on the tongue microbiota

研究代表者

朝川 美加季 (Asakawa, Mikari)

九州大学・歯学研究院・助教

研究者番号：90852583

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）：本研究では、極度に舌苔が付着した高齢者に対して機械的舌清掃を行い、清掃前後の舌苔細菌構成を次世代シーケンサーを用いて調べた結果、清掃前にはActinomycesやActinobacteriaなどの嫌気性菌が優勢であった一方で、清掃後にはStreptococcusやRothiaなどの好気性菌や通性嫌気性菌が優勢となっており、機械的舌清掃前後での明らかな舌苔細菌構成の変化が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

誤嚥性肺炎は口腔細菌を誤嚥することによって引き起こされ、特に嚥下機能の低下した高齢者では最も注意すべき疾患の一つである。これまでの研究から、誤嚥する口腔細菌は主に舌の常在細菌であることが明らかになっており、誤嚥性肺炎の病因論を理解する上で舌マイクロバイオームの全体像やその動態の解明が求められている。本研究では、成人や地域在住高齢者では通常観察されない、舌苔が極度に付着した高齢者を対象とすることで、機械的舌清掃の効果をより明確に評価した。本研究から得られる結果は、誤嚥性肺炎予防に効果的な舌マイクロバイオーム管理アプローチ構築の基盤となる情報を科学的根拠に基づきえることができる。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to investigate the effects of mechanical tongue cleaning on the tongue bacterial composition. The bacterial composition was determined by a 16S rRNA gene sequencing approach using a next-generation sequencer. The proportions of Actinomyces and Actinobacteria were predominant before mechanical tongue cleaning, whereas the proportions of Streptococcus and Rothia were predominant after that. These results suggest that mechanical tongue cleaning affects the bacterial composition of the tongue microbiota.

研究分野：予防歯科学

キーワード：口腔マイクロバイオーム 高齢者 舌苔

1. 研究開始当初の背景

誤嚥性肺炎は口腔細菌を誤嚥することによって引き起こされ、年間約 3 万 5 千人が死亡している。特に嚥下機能の低下した高齢者では最も注意すべき疾患の一つである。これまでの研究から、誤嚥する口腔細菌は主に舌の常在細菌であることが明らかになっており、誤嚥性肺炎の病因論を理解する上で舌マイクロバイーム (MB) の全体像やその動態の解明が求められている。申請者らは過去に、施設入所高齢者 173 名の舌スワブ検体から、*Prevotella* や *Veillonella* など嫌気性細菌優勢な舌 MB が肺炎死亡リスクを高めることを明らかにした。このことから、高齢者の舌 MB を肺炎死亡リスクの低い細菌構成に変化させることが望まれるが、舌 MB を変化させる方法については不明である。

舌苔は舌表面に口腔細菌や食渣、剥離した粘膜上皮などが堆積することで形成され、特に一部の高齢者では舌苔が非常に厚く付着している。舌苔内部が嫌気性環境であることを考えると、舌苔の付着は誤嚥する細菌量の増加だけでなく、質の悪化につながる可能性が考えられる。そこで申請者らは、物理的に舌苔を除去する機械的舌清掃に着目した。過去の報告から舌ブラシ等での機械的舌清掃は細菌の総量を減らすには有効であることが示唆されている (文献 1)。機械的舌清掃によって嫌気性細菌の減少を伴う舌 MB の質的な改善が期待されるが、機械的舌清掃が舌 MB の細菌構成に与える影響については不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、機械的舌清掃が舌 MB の細菌構成に与える影響を解明することである。本研究では成人や地域在住高齢者では通常観察されない、舌苔が極度に付着した高齢者を選定することで、機械的舌清掃の効果をより明確に評価することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、介護保険による通所サービスを受けている 65 歳以上の高齢者を対象とした。そのうち、舌清掃の効果を明確に評価するため、舌苔が極度に付着している高齢者を選定した。COVID-19 の影響により、高齢者施設への訪問制限が続き十分なサンプル数が確保できなかったため、新規に採取した検体とともにこれまでに採取した舌苔サンプルを用いて舌苔細菌量と細菌構成の関連について追加で解析を行った。

まず、選定した対象者に対して、歯科医師もしくは歯科衛生士が機械的舌清掃を行う前後で舌苔検体の採取を行った。検体採取には直径 15mm の不織布を貼り付けた回転式の電動歯ブラシを使用し、細菌の定量的な評価も行った。

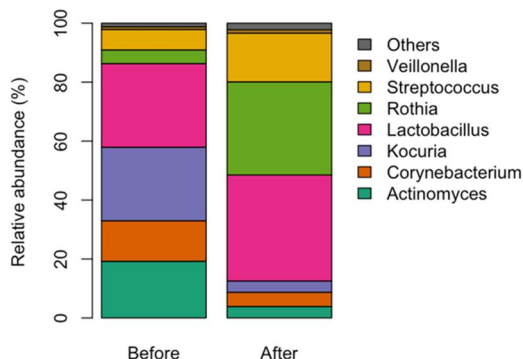
得られた舌苔検体から DNA の抽出を行い、細菌共通配列プライマーの 8F と 338R を用いて 16S rRNA 遺伝子の V1-V2 領域を用いて網羅的に増幅後、次世代シーケンサーの Ion PGM (Thermo Fisher Scientific 社) を用いて塩基配列を解読した。得られた塩基配列は、expanded Human Oral Microbiome Database (eHOMD) の配列データと RDP (Ribosomal Database Project) classifier を用いて各検体に含まれる細菌種を同定し、細菌構成を明らかにした。また、定量 PCR 法を用いて単位面積あたりの総細菌量を測定した。

4. 研究成果

舌苔が極度に付着した高齢者における機械的舌清掃前の舌苔 MB の細菌構成は、*Actinomyces* 属や *Actinobacteria* 門などに嫌気性細菌が優勢であった。一方で、機械的舌清掃後の舌苔 MB の細菌構成は、*Streptococcus* 属や *Rothia* 属などの好気性菌や通性嫌気性細菌が優勢となっており、機械的舌清掃前後での明らかな舌苔細菌構成の変化が認められた (図 1)。また、細菌種多様性に関しては、機械的舌清掃前後で変化は認められなかった。

機械的舌清掃後は、清掃前と比較して舌苔細菌量の低下が認められたため、以前に採取していた、介護給付及び通所サービスを利用している高齢者 200 名の舌苔検体を用いて、舌苔細菌量と細菌構成との関連について解析を行った。

舌苔総細菌量の定量結果から、対象者を高細菌量群 (n=100) と低細菌量群 (n=100) に分け、細菌構成との関連を調べた結果、低細菌量群では高細菌量群と比較して、*Streptococcus* 属や *Rothia* 群といった細菌属の構成比率が有意に高いことが認められた。一方で、高細菌量群では *Actinomyces* 属や *Leptotrichia* 属といった細菌属の構成比率が有意に高くなっていた (図 2)。また、細菌種多様性に関しては、細菌量の違いによる有意差は認められなかった。これらの結果

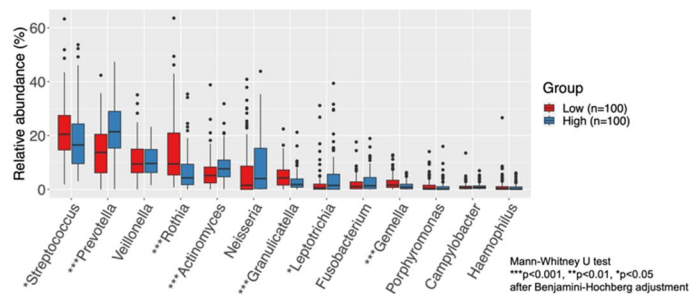


(図1) 機械的舌清掃前後での舌苔細菌構成の変化

は、機械的舌清掃前後で認められた変化と概ね一致していた。

以上より、機械的舌清掃により、舌苔細菌量の減少のみならず、舌苔MBの細菌構成を嫌気性細菌優勢の状態から好気性菌優勢の状態に変化させることができる可能性が示唆された。現時点で、疾患リスクの高い舌苔細菌構成を疾患リスクの低い舌苔細菌構成に変化させる要因については不明な点が多い。

今後は、疾患リスクの高い舌苔細菌構成を疾患リスクの低い舌苔細菌構成に変化させることができる新たな因子の解明に向けて研究を進めていきたい。



(図2) 舌苔細菌量の違いによる舌苔細菌構成の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Mikari Asakawa, Toru Takeshita, Shinya Kageyama, Yoshihisa Yamashita
2. 発表標題 Tongue microbiota and health-related conditions in elderly adults receiving day service
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 朝川美加李、竹下徹、影山伸哉、山下喜久
2. 発表標題 施設入所高齢者の舌常在細菌叢における口腔非常在細菌の同定
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinya Kageyama, Toru Takeshita, Mikari Asakawa, Rie Matsumi, Kenji Takeuchi, Kiyoshi Nagai, Masaru Morita, Muneyuki Masuda, Yasushi Toh, Toshiharu Ninomiya, Yutaka Kiyohara, Yoshihisa Yamashita
2. 発表標題 Association of Oral Microbiota with Digestive Tract Cancers
3. 学会等名 The 97th IADR General Session & Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹下徹、影山伸哉、朝川美加李、柴田幸江、山下喜久
2. 発表標題 ロングリードシーケンサーを用いた初期付着ブラークの構成細菌の同定
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 朝川美加李、竹下徹、影山伸哉、古田美智子、竹内研時、須磨紫乃、山下喜久
2. 発表標題 舌苔細菌叢の加齢変化とその特徴の探索
3. 学会等名 第71回日本口腔衛生学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mikari Asakawa, Toru Takeshita, Shinya Kageyama, Yoshihisa Yamashita
2. 発表標題 Age-related characteristics in the tongue microbiota in community-dwelling individuals
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 朝川美加李、竹下徹、影山伸哉、古田美智子、須磨紫乃、山下喜久
2. 発表標題 健康成人における舌細菌叢の年齢別特徴
3. 学会等名 第44回九州口腔衛生学会総会
4. 発表年 2022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
---------	---------