

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21053

研究課題名（和文）マルチオミクス解析から紐解く歯周炎発症・進行メカニズムの解明

研究課題名（英文）Discriminating of the Mechanism of Periodontitis Development and Progression Based on Multi-Omics Analysis

研究代表者

根本 昂（Nemoto, Takashi）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：20964836

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）：歯周病はプラーク中の細菌が病原性を増し、炎症性の歯周組織破壊を引き起こす感染症である。本研究では、歯周病治療前後のプラークからDNAおよびRNAを抽出し、次世代シーケンサーでメタトランスクリプトーム解析を実施。細菌叢組成と活動性を評価し、臨床症状と併せて解析した。治療前後で歯周炎部位の細菌多様性に有意な差が認められ、特にStreptococcus sp, Treponema denticola, Tannerella forsythiaの減少が顕著であった。治療により一口腔単位で細菌叢の変動が確認され、健康部位でもディスバイオーシスが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、歯周病治療前後のプラークから細菌の遺伝子を解析し、細菌の変動を詳しく調査した。治療により病原性の高い細菌が減少し、口腔の細菌バランス、すなわち細菌叢が変動することや、健康に見える部位も細菌叢の乱れがあることを確認した。この成果は、治療前後の歯周病罹患歯の細菌叢について明らかにした数少ない報告であり、歯周病予防と治療に対して新たな指針を提供し、口腔の健康維持においての新たな洞察をもたらした。

研究成果の概要（英文）：Periodontal disease is an infection caused by bacteria in plaque that leads to inflammatory destruction of periodontal tissue. This study extracted DNA and RNA from plaque samples before and after periodontal treatment and conducted a metatranscriptomic analysis using next-generation sequencing. The bacterial composition and activity were evaluated, along with clinical symptoms. Significant differences in bacterial diversity were observed in periodontal sites before and after treatment, with notable decreases in Streptococcus sp, Treponema denticola, and Tannerella forsythia. The study confirmed changes in bacterial flora across the entire oral cavity post-treatment, suggesting dysbiosis even in healthy sites.

研究分野：歯周病学分野

キーワード：歯周炎 歯肉炎 細菌叢 メタトランスクリプトーム

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

歯周病は病的な口腔細菌により歯周組織破壊が生じ、歯の喪失および口腔機能の低下を招くだけでなく、全身の健康にも悪影響を与えることが示唆されている。歯周病の重症化予防には発症初期段階で原因となる病的変化を的確に捉え、速やかに治療介入することが望ましい。しかし、歯周病に関わる細菌叢の変化を経時的に検討した報告は少なく、細菌学的データを早期加療の判断指標として用いるまでの十分なエビデンスはない。本研究では、歯周治療前後で疾患部位の細菌叢および宿主発現遺伝子に対して網羅的な解析を行う。疾患の発症・進行・再発などにみられるバイオマーカーを明らかにし、歯周治療における新たな病状評価法への応用開発を目指す。

### 2. 研究の目的

歯周病の主因となるプラーク(細菌)について、疾患部位と健常部位の細菌叢を比較・検討しその差異を示した対照研究は多いが、縦断的な観察や、治療介入を併せて検討したものは少ない。また、これまでの細菌叢解析では試料として主に細菌由来の DNA が用いられている。この場合、生菌と死菌を区別することは不可能であり、結果、試料中の細菌叢組成やその特性が誤って判断され、歯周病の症状との関連を見出せないひとつの原因であると考えられた。そこで本研究では、歯周病治療前後における歯周局所のポケット試料から DNA および RNA を抽出し、細菌叢組成および網羅的な活動性を評価する。同時に宿主細胞由来の遺伝子発現を調べ、臨床症状などのデータと併せて解析を行う。これにより疾患の発症・進行・再発に関わる細菌学的指標(細菌叢、細菌種および発現遺伝子の特徴)を同定し、歯周病の新たな病状評価法としてこれら指標の応用を目指す。

### 3. 研究の方法

歯周組織検査およびデンタル X 線写真検査により歯周病と診断された被験者から採取された歯周病治療前の健常歯周組織、歯肉炎、歯周炎部位のポケット(歯肉溝)よりペーパーポイントを用いてサンプルを採取する。同サンプルから DNA および RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて塩基配列を取得する。シーケンス等ウエット解析は、申請者が中心となり、東京医科歯科大学歯周病学分野所属の 2 名の大学院生の協力を得て実験を進める。データ解析にはヒトゲノム解析センターの SHIROKANE を使用し、細菌叢や病原因子の組成、細菌種間ネットワークの特徴、細菌種の活動性(RNA/DNA 比から評価)、宿主細胞由来の遺伝子発現を調べる。これらの解析は研究協力者 2 名の助言・協力を得て進める。申請者がこれまで行ってきた研究から、疾患の進行過程で活動性が上昇すると予想される細菌(群)や、臨床症状の変化にあわせた細菌叢の変化等に着目し、病態に関連する細菌学的マーカー候補を検討する。

### 4. 研究成果

歯周病は口腔内の代表的な感染症であり、プラーク中の細菌により生じる複合菌感染症である。歯周病はプラーク中の細菌が病原性の高いものへと変化(ディスバイオーシス)することで炎症性の歯周組織破壊が生じる。その病態の理解と予防・治療法を検討する上で細菌叢の dysbiosis の特徴やそれらが生じる原因を知ることは重要である。

そこで本研究では、歯周病の治療前後の時点において歯周ポケット内のプラーク試料から DNA および RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いてメタトランスクリプトーム解析を実施し、細菌叢組成および網羅的な活動性を評価した。同時に臨床症状などのデータと併せて解析を行うことで、疾患の発症・進行・再発に関わる細菌学的指標(細菌叢、細菌種および発現遺伝子の特徴)の同定を試みた。

細菌組成の多様性は歯周炎部位の治療前と治療後で有意な差が認められ、比較対象として同じく試料採得をした健常や歯肉炎部位において有意差は認められなかった。しかし、治療後に有意に存在割合が変化した細菌種が健常、歯肉炎部位を含む全ての部位で認められ、健常、歯肉炎、歯周炎部位においてそれぞれ 33、35、51 菌種検出された。特に歯周炎では *Streptococcus* sp, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* の減少を認めた。また *Tannerella forsythia* は治療前の歯周組織状態に関わらず治療後で減少していた。

歯肉炎や歯周炎部位で治療後に変動を認めた細菌種は歯周組織の治癒や健常状態の維持に寄与している可能性がある。驚くべきことに健常部位においても主要な歯周病原細菌とされている *Tannerella forsythia* の検出頻度の減少が認められたことから、治療前の健常部位においても細菌叢のディスバイオーシスが生じており、歯周疾患リスクが高い状態にあると示唆された。また治療によって歯肉炎や歯周炎部位のみならず、健常部位も含めた一口腔単位で細菌叢の変動が起きている事を確認した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小林龍太
2. 発表標題 歯周組織状態ごとの歯周基本治療後の細菌叢変化について
3. 学会等名 第110回アメリカ歯周病学会共催日本歯周病学会・日本臨床歯周病学会2024年大会（国際学会）
4. 発表年 2023年～2024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	竹内 康雄  (Takeuchi Yasuo)  (60272522)	東京医科歯科大学	
研究協力者	芝 多佳彦  (Shiba Takahiko)  (90802306)	東京医科歯科大学	

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