

## 2021年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

|       |  |
|-------|--|
| 研究課題  | <b>歯周病患者における口腔内細菌叢の網羅的解析<br/>－歯周基本治療が口腔内細菌叢に与える効果－</b> |
| キーワード | ① 歯周病、②マイクロバイオーム、③網羅的解析                                |

### 研究者の所属・氏名等

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| フリガナ<br>氏名                  | タカクラ エリコ<br>高倉 枝里子   |
| 配付時の所属先・職位等<br>(令和3年4月1日現在) | 東京歯科大学短期大学 助教  |
| 現在の所属先・職位等<br>(令和4年7月1日現在)  | 東京歯科大学短期大学 助教  |
| プロフィール                      | 2013年3月東京歯科大学歯科衛生士専門学校卒業し、歯科衛生士免許を取得。同年4月、同校に教員として着任。2016年4月、東京歯科大学大学院歯学研究科に入学し、口腔内のマイクロバイオーム研究に従事。2020年3月博士課程を修了し、博士（歯学）の学位を取得。<br>2019年より東京歯科大学短期大学にて助手を務め、2020年4月より同大学にて助教に着任し、現在に至る。 |

### 1. 研究の概要

ヒトの口腔内には300～500種類の細菌が定着している。これらの細菌は、不十分な口腔清掃等のファクターにより、歯の表面にプラーク（歯垢）を形成する。プラーク中には、歯周病の発症に関わる細菌が特異的に存在していることが解明されており、歯周病は、その細菌によって歯茎に炎症を引き起こし、歯周ポケットといわれる歯と歯茎の間の溝を形成する。歯周病が進行すると、やがては歯を支える骨が吸収されるため、結果的に歯の喪失につながり、フレイルやオーラルフレイルの原因となる。

歯周病に対する治療としてはまず、すべての患者に対して歯周基本治療が行われる。これは、プラークコントロールや、スケーリング・ルートプレーニング（SRP）と呼ばれるプラークの機械的除去を中心とした処置である。歯周基本治療は、歯周病治療の中でも非常に重要な位置を占めており、歯周基本治療だけで多くのケースで炎症が寛解または治癒に向かうが、一部では効果が認められない場合がある。その要因として考えられているのが、ディスバイオーシスと呼ばれる**歯周ポケット内プラークの細菌叢（マイクロバイオーム）の病原性と組成の変化**である。本研究はこの点に着目し、細菌叢の網羅的な解析が可能である、次世代シーケンサーを用いた歯周ポケット内プラークの細菌叢の解析に取り組んだ。その結果、健常部位の歯肉縁下マイクロバイオームは、歯周炎部位と比較し高い安定性を有しており、歯周炎部位では、歯周基本治療によって歯周病原性を持つ細菌の存在量が減少し、歯肉縁下マイクロバイオーム組成が改善することが示された。

### 2. 研究の動機、目的

概要でも述べた通り、歯周病の治療と発症予防は人々の健康寿命の延伸のためにも必須といえる。しかし、歯周病の病態は一様ではなく、その分類や治療方法、転帰も様々である。この複雑な疾患に対峙するためには、正確な診断、治療方法の選択、治療効果の判定が求められるが、現在の歯科医療では、歯肉や歯を支える骨からなる歯周組織の所見（発赤や腫脹、出血、

骨の吸収度等) と、治療に対する効果の臨床的な良し悪しで判断されることがほとんどである。従来の「削る」リハビリテーション医療から、疾患の病因を除去し発症を予防する予防医療へ変化してきている歯科医療において、臨床的な判定だけではなく、科学的な知見を持って治療に取り組むことが必要不可欠である。

歯周病の病因については、これまで多くの研究がなされ、歯周病の発症に強く関わる細菌が特定される等発展を続けてきたが、近年、細菌叢の網羅的解析を可能とした次世代シーケンサーにより、歯周炎の病因は歯周ポケット内プラークの細菌叢 (マイクロバイーム) の病原性と組成の変化と考えられるようになった。しかし、その変化の根底にあるメカニズムはいまだ解明されておらず、歯周基本治療による歯周ポケット内プラークの細菌叢の病原性と組成の変化を解析した報告も少ない。

本研究は、次世代シーケンサーを用いた歯周ポケット内プラークの細菌叢の網羅的解析により、歯周ポケット内プラークの細菌叢の病原性と組成の変化のメカニズムを明らかにすることを目的としている。

### 3. 研究の結果

歯周病の大多数を占める慢性歯周炎と診断され、インフォームドコンセントを得た患者 7 名を対象とし、5mm 以上の歯周ポケット 2 箇所と、3 mm 以下の健常部位 1 箇所をサンプル採取部位とした。歯肉縁下プラークサンプル採取は、初診時、歯周基本治療 2 週間および、4 週間後に行った。臨床パラメーターの記録は、初診時と 4 週間後に行った。採取したサンプルから DNA を抽出し、16S rRNA の V3-V4 領域塩基配列を Miseq により決定した。それを基に operational taxonomic unit (OTU) を決定し、Qiime2 によりマイクロバイームの比較を行った。

その結果、健常部位は、歯周基本治療前後で  $\alpha$  多様性および  $\beta$  多様性に変化が認められなかった。歯周炎部位では、歯周基本治療により OTU 数の減少と  $\beta$  多様性の変化が認められた。この変化は 4 週間後まで持続していた。歯周基本治療後は、歯周病原性を持つ *Porphyromonas*、*Treponema*、*Fusobacterium*、*Fretibacterium* 等の有意な減少と、健常なデンタルプラークの主要な菌種である *Actinomyces*、*Rothia*、*Streptococcus* の有意な増加が認められた。

これらの結果から、健常部位の歯肉縁下マイクロバイームは、歯周炎部位と比較し高い安定性を有しており、歯周炎部位では、歯周基本治療によって歯周病原性を持つ細菌の存在量が減少し、歯肉縁下マイクロバイーム組成が改善することが示された。

### 4. 研究者としてのこれからの展望

本研究により、健常部位の歯肉縁下マイクロバイームの安定性と、歯周基本治療によって歯周炎部位における歯周病原性を持つ細菌の存在量が減少し、歯肉縁下マイクロバイーム組成が改善することが示された。今後はさらにサンプル数を増やし、解析の精度を高め、より精度の高い診断および治療方法の選択、予後の向上につながる細菌因子のデータ取得を目指すとともに、歯周基本治療過程で細菌叢がどのように変化していくかを解析することで、最終的には科学的根拠に基づいた診断や治療の経過を患者に提示することを目標としている。

### 5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

本研究を遂行するにあたり、研究者奨励金をご支援いただきました日本私立学校振興・共済事業団および関係者各位に心より感謝申し上げます。今回ご支援いただきました研究奨励金により、歯周ポケット内プラークの細菌叢の病原性と組成の変化の解明に向けた一歩を踏み出すことが出来ました。今後も研究活動に邁進し、人々の健康寿命の延伸に寄与していきよう精進して参ります。