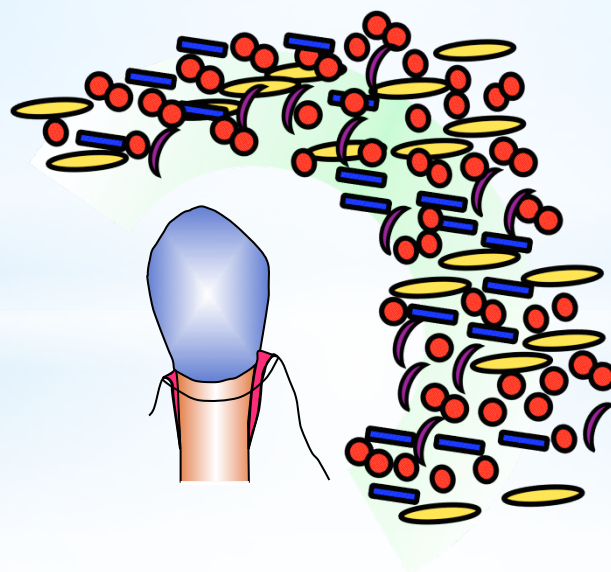


口腔フローラと全身の健康

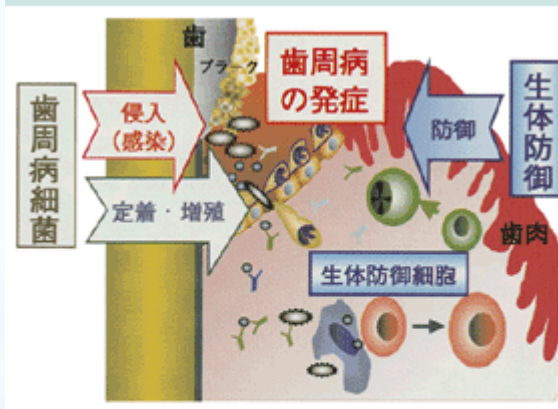
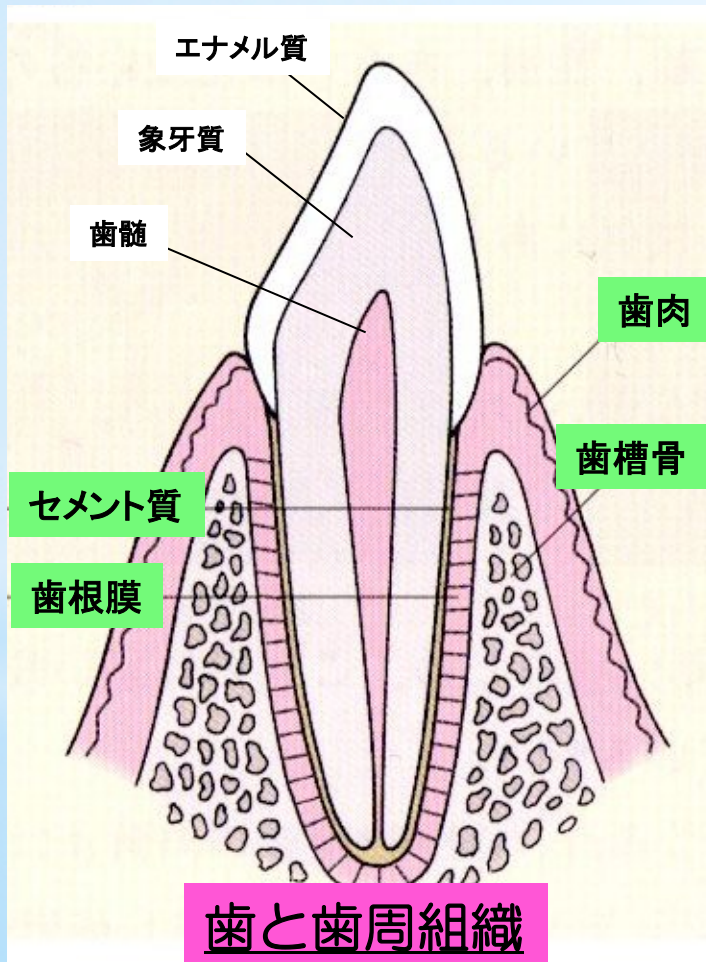


熊本大学大学院生命科学研究部 歯科口腔外科学分野

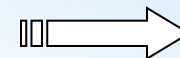
廣末 晃之

歯周病(歯周炎)

一般成人に高い頻度で生じる生活習慣病であり、**主にグラム陰性菌が関与する歯周組織の慢性感染症**である。歯周病の主たるリスクファクターは**デンタルプラーク（歯垢）**であり、各種歯周病菌が歯周ポケット内の免疫反応に関与している。



歯周病の発症



歯周病の進行

歯周病は、**歯周組織の炎症** である

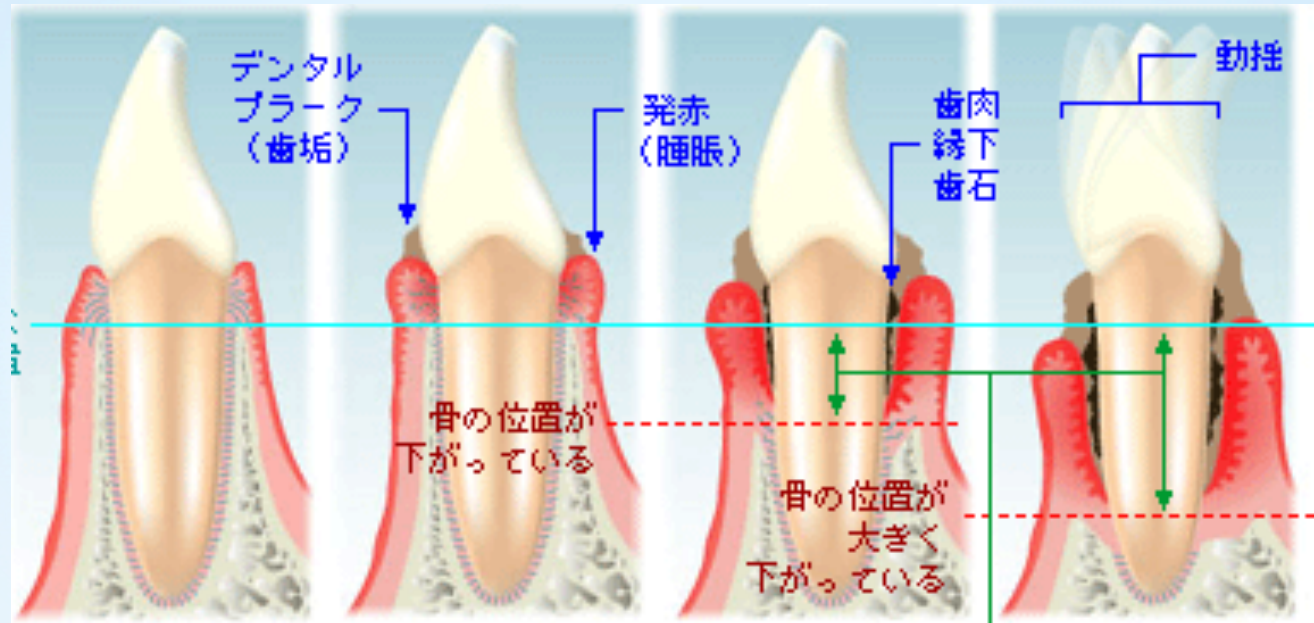
歯周炎の進行と分類

健康な歯周組織

歯肉炎

中等度歯周炎

重度歯周炎



引き締まった歯肉



歯肉からの出血
(Bleeding on probing)

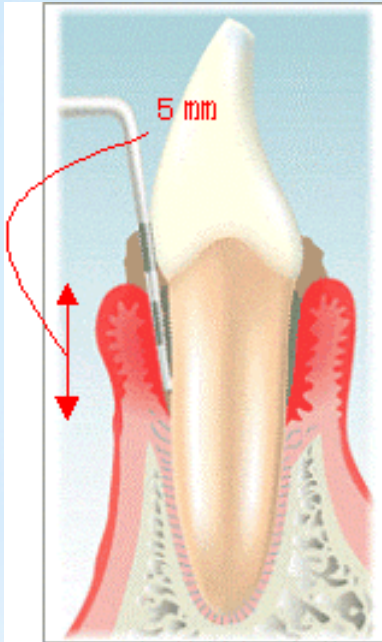


多量の歯垢と
歯石の付着



歯牙の動揺と
偏位

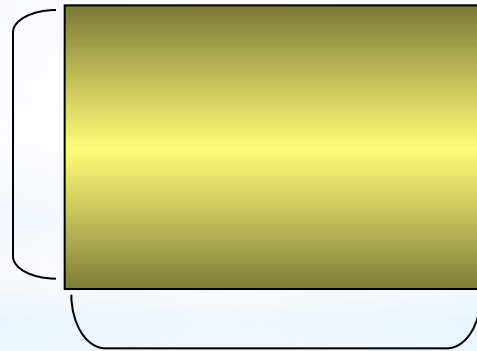
歯と歯ぐきの間から細菌は体内に侵入する !



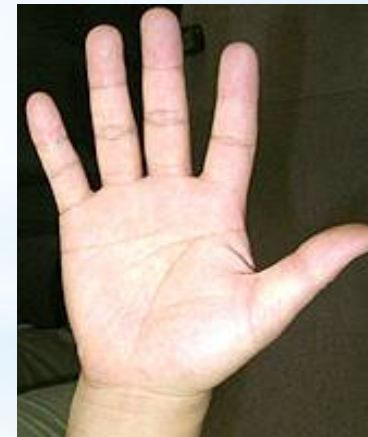
歯が28本存在し、それぞれの歯が 5～6 mm の歯周ポケットを有すると仮定すると、その面積は 72 cm² になる (およそ手のひら大)。

つまり、72 cm² の潰瘍に住み着く多くの歯周病原細菌が炎症反応を引き起こしている。

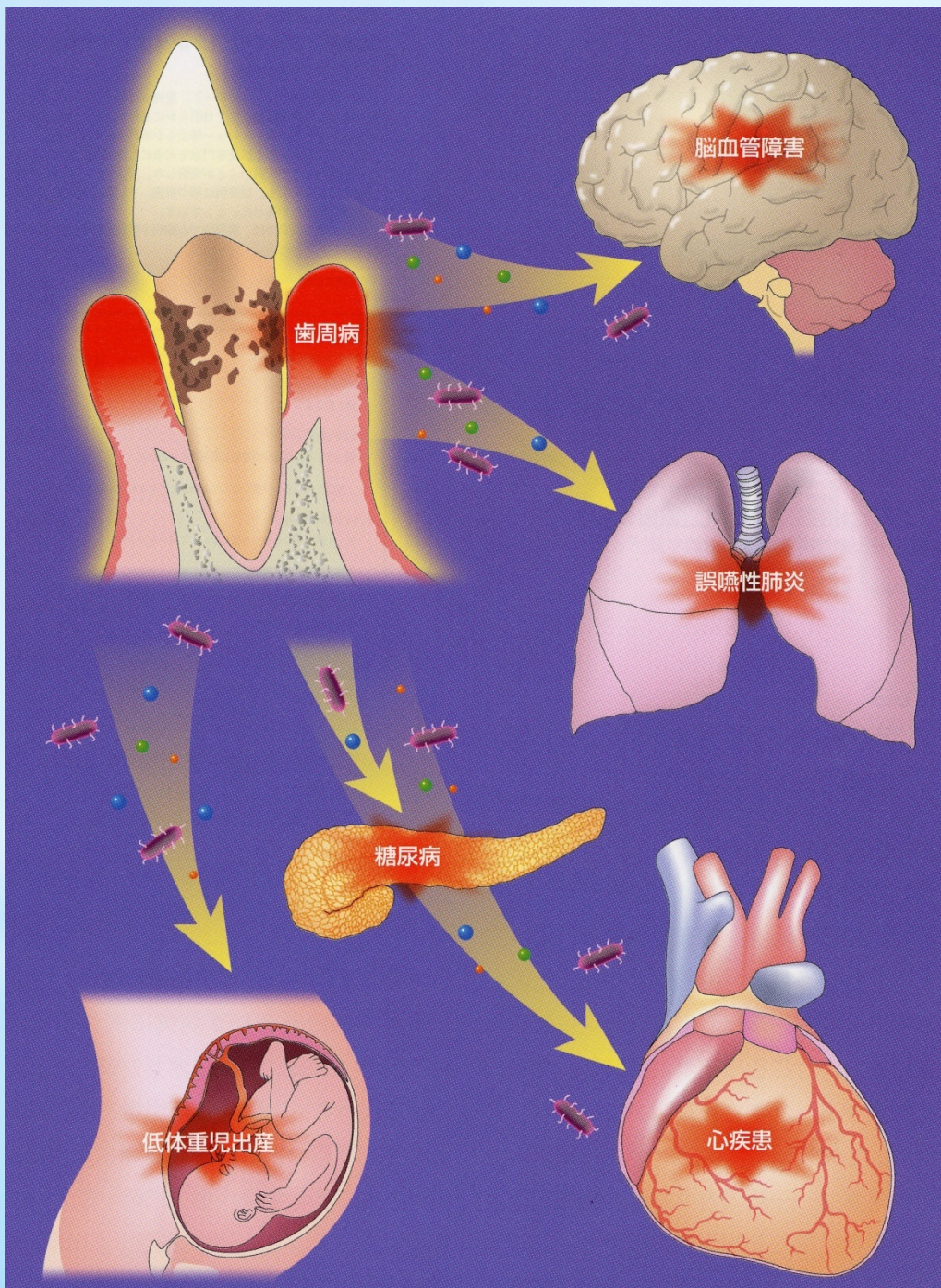
8 cm



9 cm



歯周ポケット検査



歯周病の持続的な炎症と 全身の臓器の問題

歯周組織で炎症の持続があると、
歯周病原菌、炎症性サイトカ
インなどが、様々な疾患と関係
する

ペリオドンタルメディスン

歯周病と循環器疾患

当院循環器内科との共同研究

■ 歯周病検査

冠動脈疾患の程度を知らない歯科医が、パノラマX線写真による評価を含めて歯周病の評価を行った（右シート参照）。

歯周病検査における評価項目

- ・プロービング時の出血率（％）
- ・最深部が6mm以上の歯周ポケットを有する歯数
- ・喪失歯数
- ・歯根長の 1/2 以上の骨吸収 を有する歯の割合（％）
- ・喫煙程度

歯周病評価シート

患者登録番号:

診察年月日:

患者氏名:

年齡:

生年月日:

原疾患名:

人工弁: あり・なし

細菌性心内膜炎の既往: あり・なし

カルシウム拮抗剤の内服: あり・なし

服用期間：

ワーファリン内服: あり・なし

服用期間：

PT-INR:

<全身的評價>

糖尿病: あり・なし

HbA1c:

その他の指標:

喫煙: あり・なし

喫煙年數：

1 日の喫煙本数:

本/日

身長: m

体重:

体重: kg

体格指数((BMI: body-mass index)) = (体重(kg)/身長(m)²) =

<口腔内評価>

[illegible]

殘存齒數： 本

PCR: (プラークの付着している歯面数の合計/被検歯面数の合計) × 100 = %

動揺菌数(2度以上): 本(%)

プローピング時の出血した部位数: 本(%)

ポケット 6 mm 以上の歯数: 本(%)

骨吸収が歯根長の 1/2 以上におよぶ本数: 本(%)・・・パントモで評価

歯周病の程度: 健康 歯肉炎 軽度歯周炎 中等度歯周炎 重度歯周炎

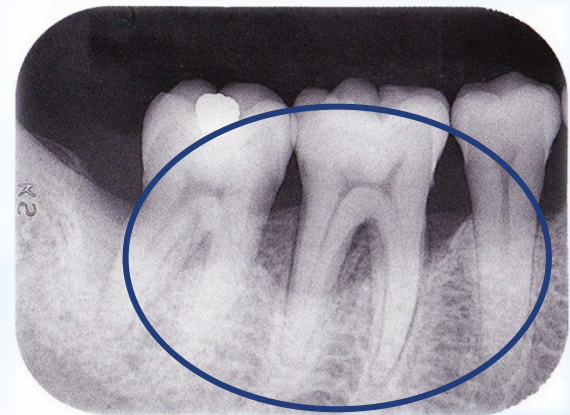
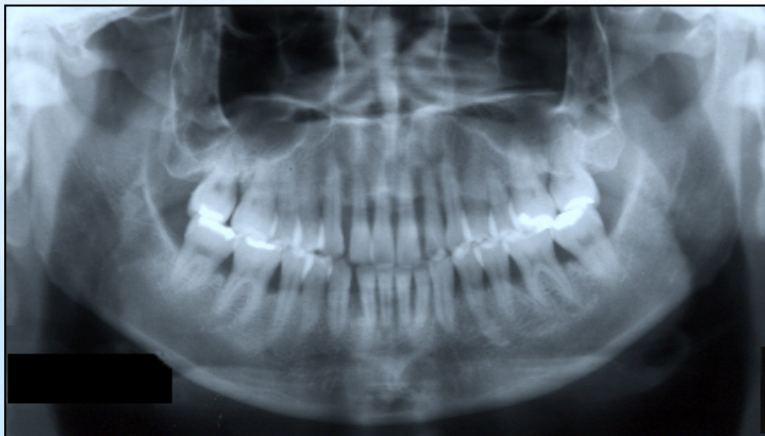
コメント:

歯周病検査における評価項目

- ・ プロービング時の出血率 (%)
- ・ 最深部が6mm以上の歯周ポケットを有する歯数
- ・ 喪失歯数
- ・ 歯根長の $1/2$ 以上の骨吸収を有する歯の割合 (%)
- ・ 喫煙程度



パノラマエックス線写真による骨吸収像の評価



歯槽骨吸収

➡ **Periodontal Risk Score**を算定

Renvert S. et al. *J.Clin.Periodontology* (2004)

動脈硬化による心疾患の患者
重い歯周病の可能性
熊大病院研究

急性心筋梗塞など動脈硬化による心疾患にかかった人は、重い歯周病にかかっている可能性が高い。こんな研究結果が、熊本大医学部付属病院歯科口腔外科と循環器内科の共同研究で分かった。研究結果は、近く発

研究では、歯周病の検査が動脈硬化を予測する簡易マーカー(判断基準)になり得るとして、歯周病と心疾患の関連性を示す研究として注目されている。研究は、同大病院で心臓の冠動脈の狭窄を測定する冠動脈造影検査と歯周病検査の両



1. **急性冠症候群発症**患者は冠動脈疾患患者よりも歯周病の程度が不良である。

Soejima et al., Int J Cardiol, 2008

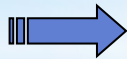
2. 歯周病のリスクスコアは、**冠動脈疾患**の有意な予測因子である。

Oe et al., Heart and Vessels, 2009

3. **アテローム性動脈硬化症**と**高血圧症**の進行とも関連。

Hanaoka et al., Hypertens Res, 2013

歯周炎のコントロール



<治療前>

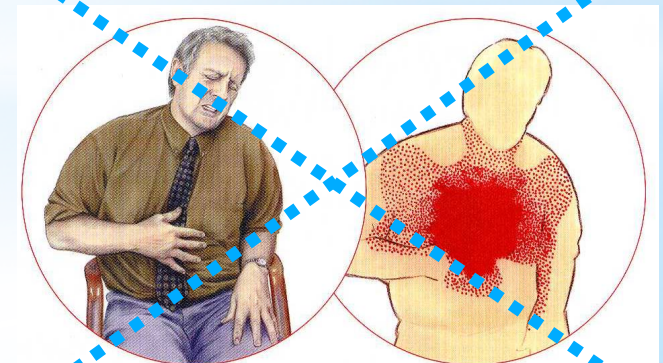
<治療後>



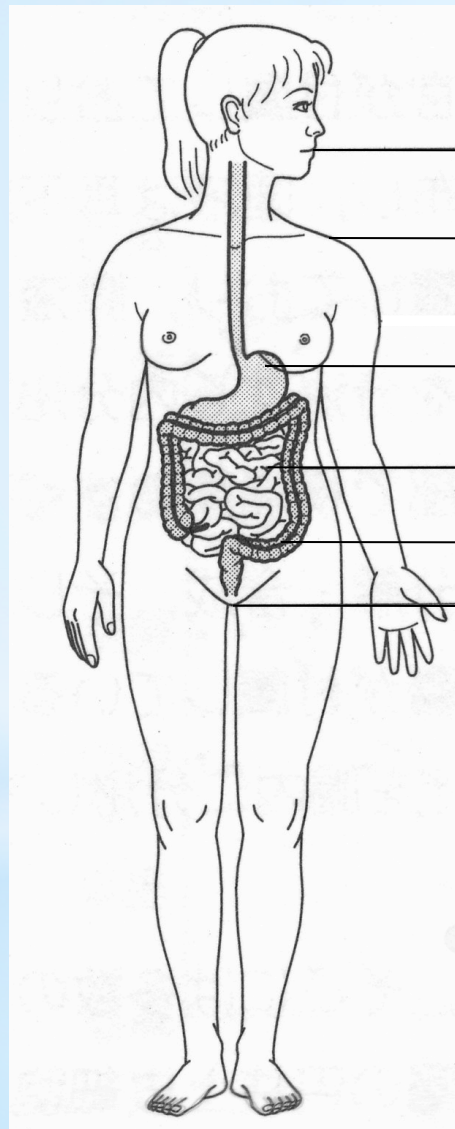
歯周治療



ACS, 冠動脈疾患の発症予防



ヒト常在細菌叢 (Human microbiota)



細菌数 (/g, ml, cm²)

菌種数

口腔 : $10^8 \sim 10^{10}$

> 700

皮膚 : 10^5

> 150

胃 : $10^0 \sim 10^4$

小腸 : $10^4 \sim 10^7$

大腸 : $10^{11} \sim 10^{12}$

> 1000

腋 : 10^9

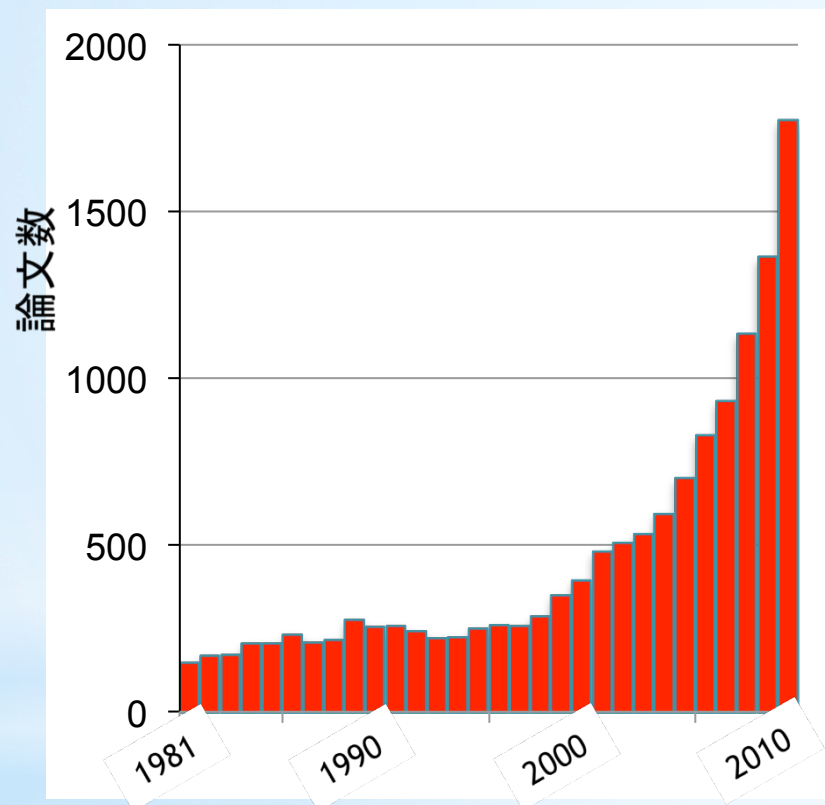
ヒト常在細菌の総数 : 10^{14}

V

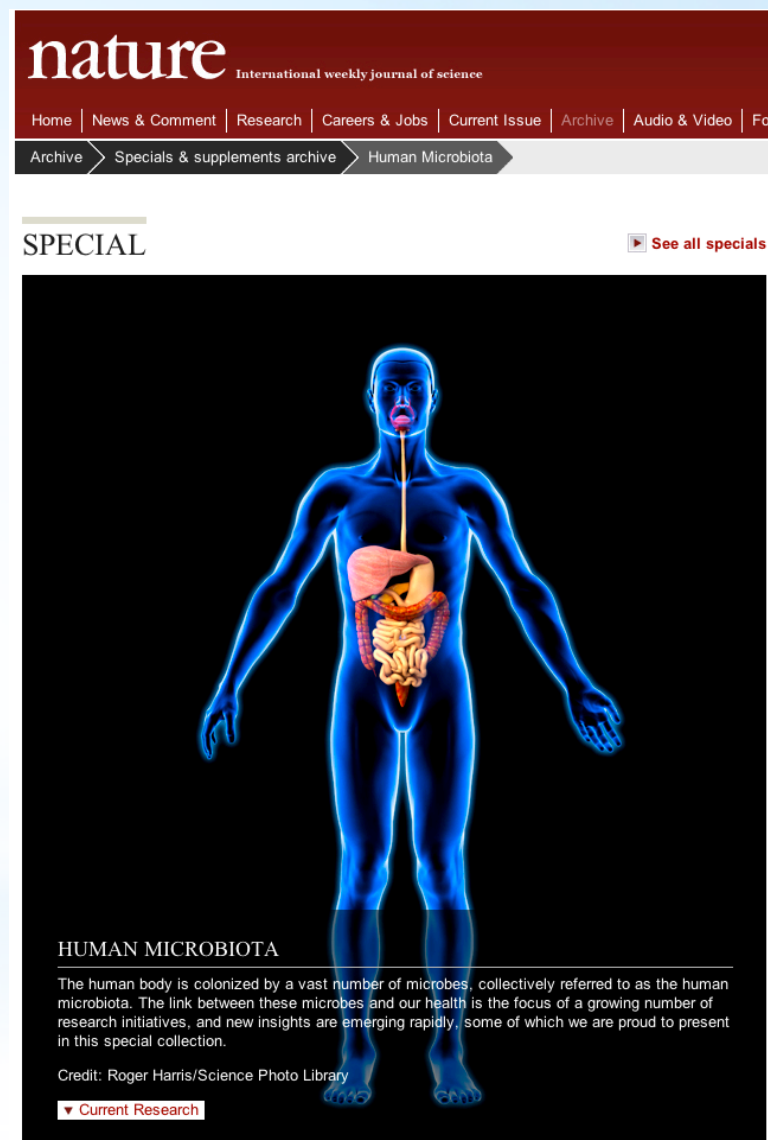
ヒト自身の細胞数 : 10^{13}

常在フローラと健康

“microflora” ないし “microbiota”を含む
Pubmed 掲載論文の数



常在フローラ研究は近年劇的に加速している。



Nature, 12 May 2011

常在フローラと健康に関する論文

Ley et al. 2006. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. Nature 444:1022–1023. #腸内フローラと肥満

Frank et al. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 104:13780–13785. #腸内フローラと炎症性腸疾患

Wen et al. 2008. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes. Nature 455:1109–1113. #腸内フローラと糖尿病

Fredricks et al. 2005. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. N. Engl. J. Med. 353:1899–1911. #膣フローラと細菌性膣炎

Hilty et al. 2010. Disordered microbial communities in asthmatic airways. PLoS One. 5:e8578. #気管フローラと喘息

Fierer et al. 2010. Forensic identification using skin bacterial communities. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107:6477–6481. #皮膚フローラと個人識別

従来の細菌群集構成解析法

培養法による構成細菌の同定



段階希釈後、さまざまな条件に振って培養



コロニー性状、生化学的性状の検査

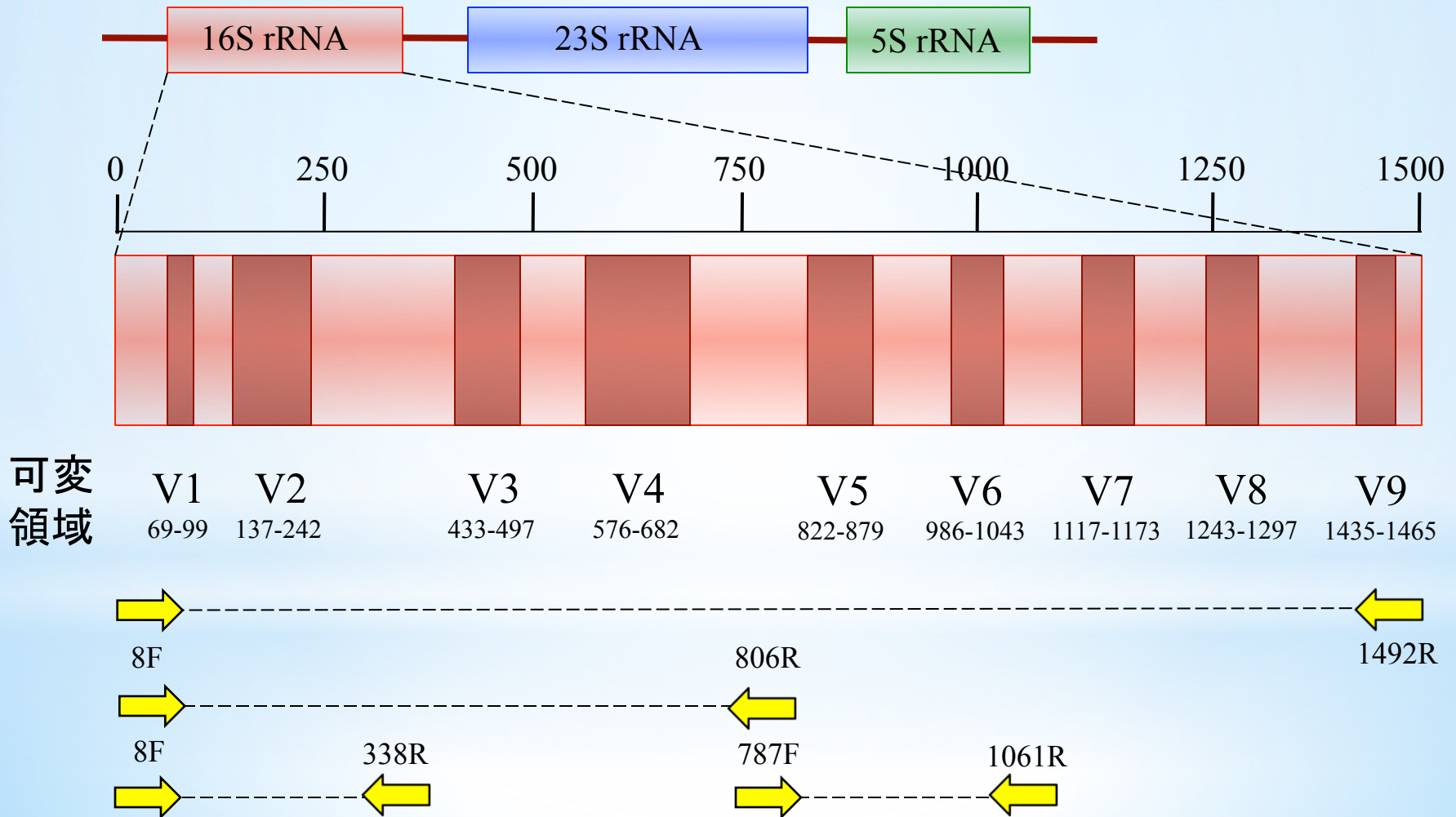


各コロニー数のカウント

かかる時間、労力、コストが膨大である
培養困難な菌を見落とす可能性がある

16S ribosomal RNA 遺伝子

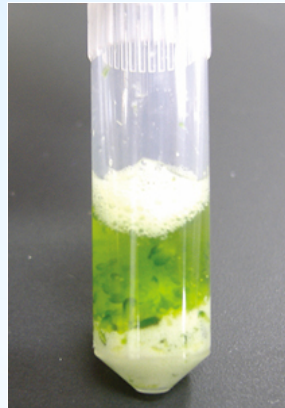
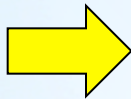
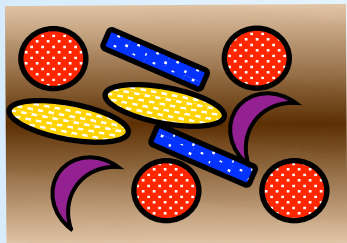
細菌の系統関係や分類の指標として使われる



細菌群集検体からのDNA抽出

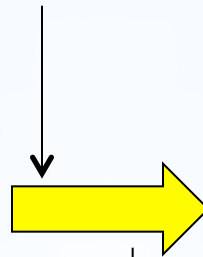
唾液、歯垢、
糞便 etc.

細菌群集検体



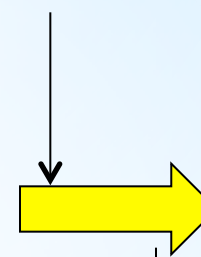
菌体を破碎

フェノール



タンパク
沈殿

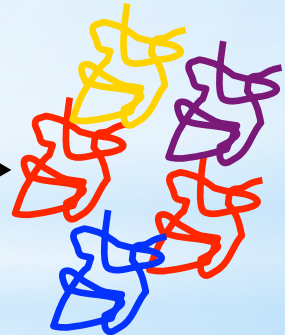
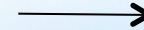
エタノール



上清

DNA
沈殿

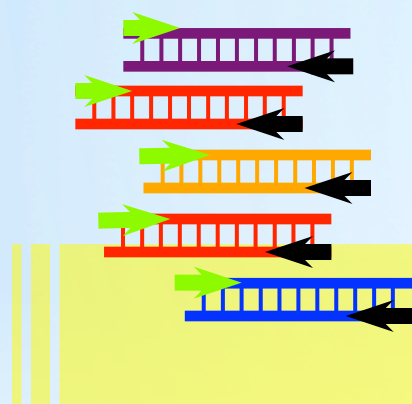
上清
捨てる



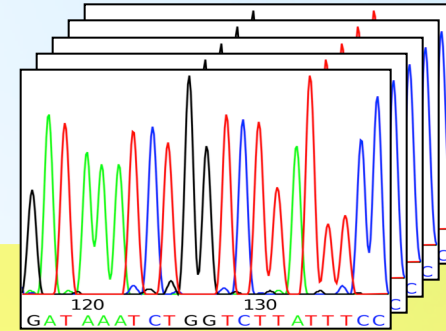
細菌群集
DNA

フローラ構成細菌種の同定

16S rRNA 遺伝子群



Ion PGM シーケンサー



※次世代シーケンサーにて塩基配列を解析

```
>20110628-2_Shin_A01
TGCAACACTACTATAGGGCGAATTGGGTCGGGGCCCCCTCGAGGTCGA
CGGTATCGATAAGCTTGATATCGAATTCCTGCAGCCGGCTACCTTGTTA
>20110628-2_Shin_A01
TGCAACACTACTATAGGGCGAATTGGGTCGGGGCCCCCTCGAGGTCGA
CGGTATCGATAAGCTTGATATCGAATTCCTGCAGCCGGCTACCTTGTTA
>20110628-2_Shin_A01
TGCAACACTACTATAGGGCGAATTGGGTCGGGGCCCCCTCGAGGTCGA
CGGTATCGATAAGCTTGATATCGAATTCCTGCAGCCGGCTACCTTGTTA
>20110628-2_Shin_A01
TGCAACACTACTATAGGGCGAATTGGGTCGGGGCCCCCTCGAGGTCGA
CGGTATCGATAAGCTTGATATCGAATTCCTGCAGCCGGCTACCTTGTTA
>20110628-2_Shin_A01
TGCAACACTACTATAGGGCGAATTGGGTCGGGGCCCCCTCGAGGTCGA
CGGTATCGATAAGCTTGATATCGAATTCCTGCAGCCGGCTACCTTGTTA
ACGGCCGAGAACGATTACCGCAGCGTTGCTGATCTGCGATTACTAGCG
ACTCCAACTTCACGGGTGCGAGTTGACGACACCGATCCGAACGAGACGG
GCTTTAAGGATTGCTGACCTCACGGTATCGACGCCCTCTGTACCGGC
CATTTAGCATGCGTGAGGCCAAGACATAAGGGCATGATGATTGACG
TCATCCCACTTCTCCGAGTTGACCCCGCAGCTCCCGCGAGTCCCG
ACCACACGTCGCTGGCAACCGGACAAGGTTGCGCTCGTTGCGGAGCT
TAACCAACATCTCAGCAGCAGGCTGACGACAACCATGACCACTGTG
AACCGGCCCAAGGAAGGCCCGTCTCCGAGCCGACCGGCACATG
TCAAGCCTTGTAAGGTTCTTGGGTTGATCGAATTAATCGCATGCTC
```



→ *S. salivarius*
→ *P. intermedia*
→ *F. nucleatum*
→ *S. salivarius*
→ *V. dispar*

構成細菌をランダムに
一つ一つ決定

16S rRNA 遺伝子塩基配列データベース

Ribosomal Database Project (Michigan State Univ.)

The screenshot shows the RDP website interface. At the top is a blue header with the RDP logo and navigation links: RDP HOME, ABOUT, ANNOUNCEMENTS, CITATION, CONTACTS. Below this is a secondary navigation bar with links: BROWSERS, CLASSIFIER, LIBCOMPARE, SEQMATCH, PROBE MATCH, TREE BUILDER, PYRO, TAXOMATIC, SEQCART, ASSIGNGEN.

The main content area features a section for "RDP Release 10, Update 26 :: Mar 28, 2011 :: 1,613,063 16S rRNAs". It includes a brief description of the project and a list of two major changes to the RDP10 release:

- RDP10 provides new **Bacterial** and **Archaeal** alignments with several significant enhancements over the previous RDP 9 alignments.
- Use of the *Infernal* secondary-structure based aligner that provides better support for short partial sequences and handles certain sequencing artifacts in a more intuitive manner.

Below this is a section titled "Explore our online analysis tools:" which contains a vertical menu of tools: myRDP, BROWSERS, CLASSIFIER, LIB COMPARE, SEQ MATCH, PROBE MATCH, TREE BUILDER, PYROSEQUENCING PIPELINE, ASSIGNMENT GENERATOR, TAXOMATIC, RDP_MIMARKS GoogleSheet, and RDP FunGene. To the right of this menu, instructions are provided: "HOVER over any tool item in the menu to see a brief popup description of its features;" and "CLICK on the tool menu item to begin working with it." A video icon and text encourage users to view video tutorials and visit each tool's help file.

On the right side of the page, there is a "myRDP login" button and a "RDP News" section. The news section contains several updates, including RDP staff attending ASM New Orleans, RDP aiding SRA submissions, and the release of MIMARKS standards.

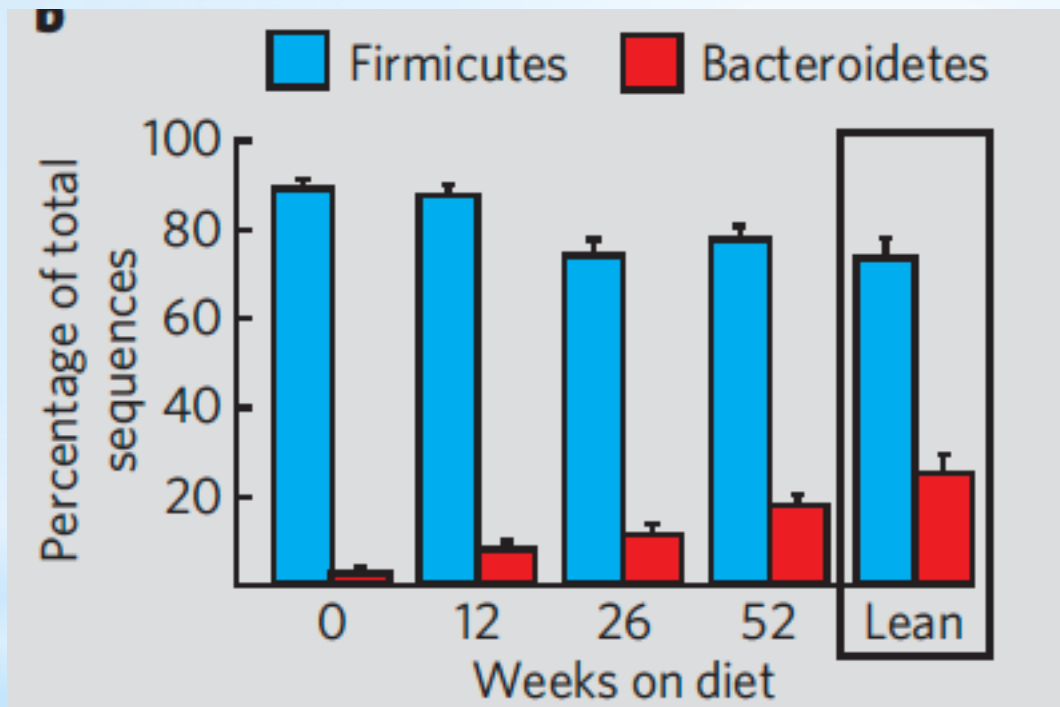
At the bottom, a "Sponsors:" section lists the National Science Foundation, the Office of Biological and Environmental Research, and the National Institutes of Health, each with its respective logo.

<http://rdp.cme.msu.edu/>

250万を超える16S rRNA 遺伝子の塩基配列が登録されている。

肥満と腸内フローラ

肥満のヒトの腸内フローラは、痩せ型のヒトに比べ、**Firmicutes** の比率が高く、**Bacteroidetes** の比率が低い。



Ley et al., Nature (2006)

Firmicutesは
多糖類の分解能が高い



Firmicutesが多い肥満の人
では同じ食事量でも吸収で
きるエネルギー量が高い。

肥満と腸内フローラ

肥満マウス



痩せマウス

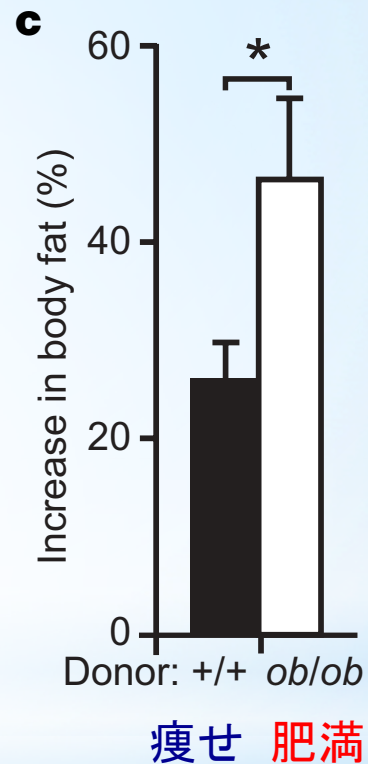


腸内フローラを無菌マウスに移植



無菌マウス

同じ食餌を2週間...



肥満フローラマウスのほうが太った。

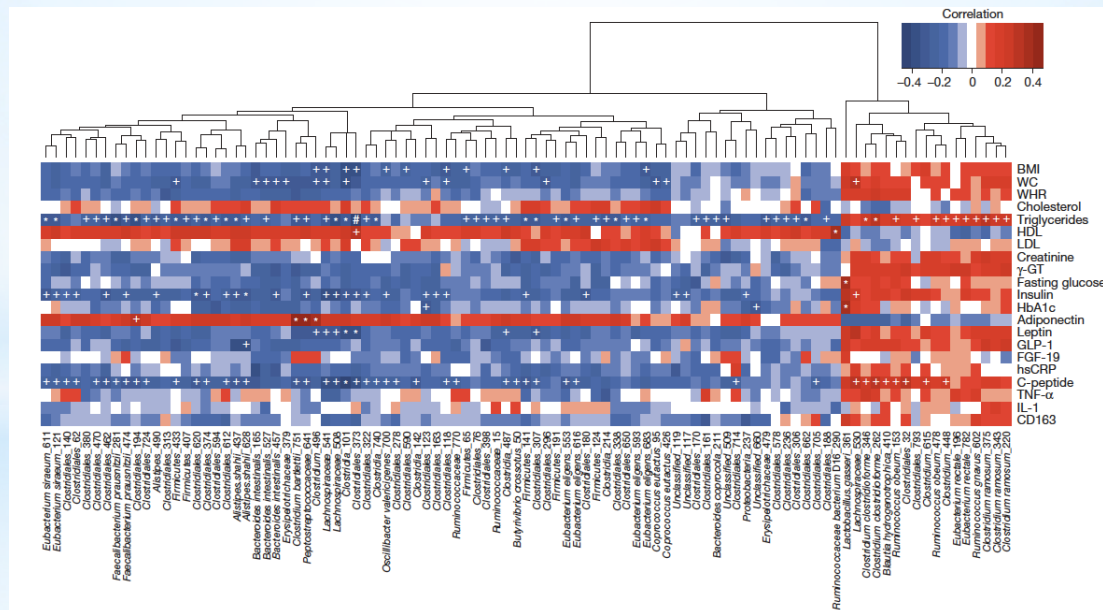
糖尿病と腸内フローラ

Fredrik H. Karlsson et al. :Gut metagenome in European women with normal,impaired and diabetic glucose control.

Nature 498:99–103(2013)

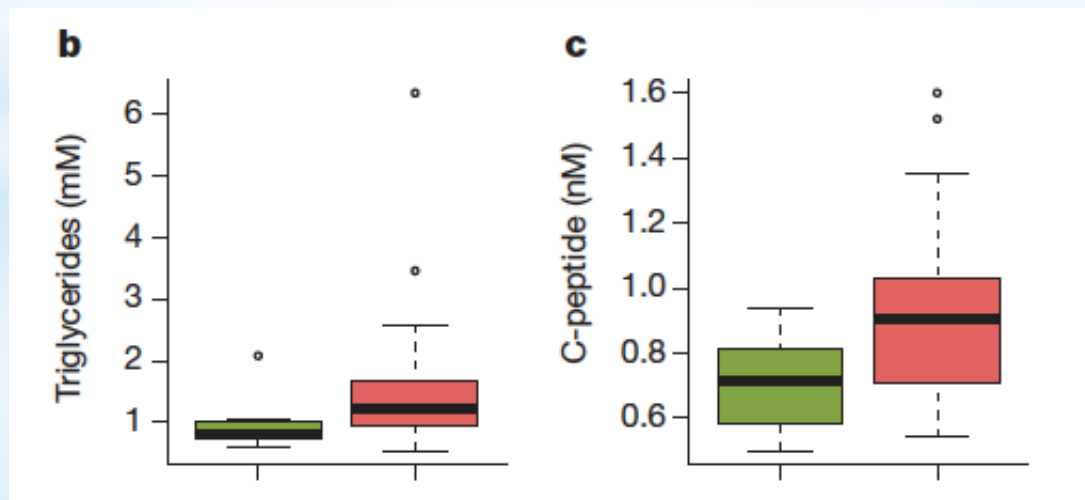
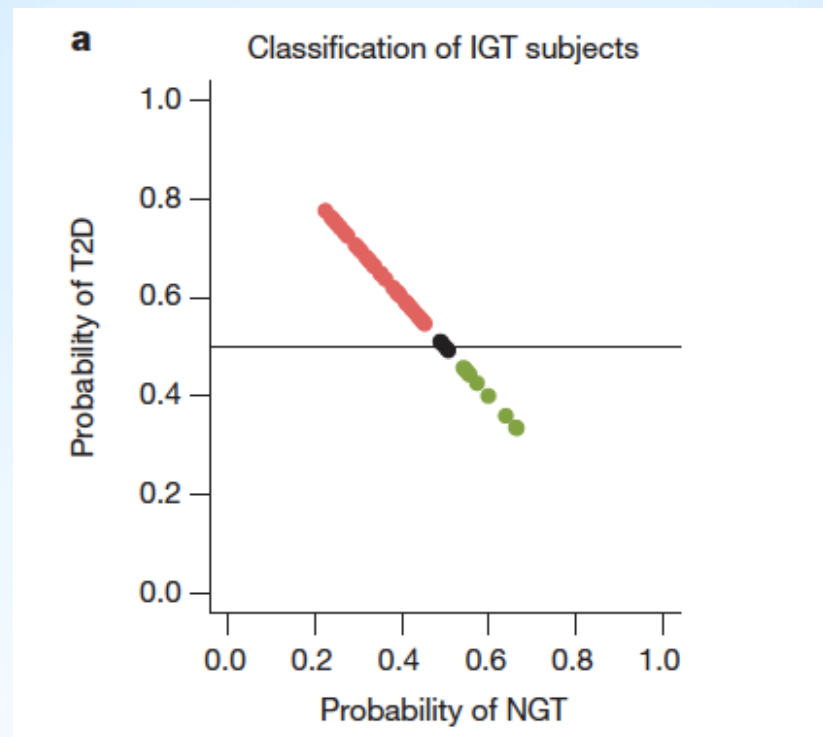
腸内細菌のバランスの乱れが2型糖尿病の発症に何らかの影響を与えている可能性が指摘されている。

欧州の平均年齢70歳の女性145人（糖尿病患者、耐糖能異常を示す患者、健康な被験者）から得られた便のサンプルを用いて、DNA情報をコンピューターにより解析するメタゲノム解析手法を用い解析した。



2型糖尿病の女性では、ブドウ糖と脂肪の代謝で重要な役割を果たす酪酸を産生する腸内細菌の数が、健康な女性に比べ減少していた。

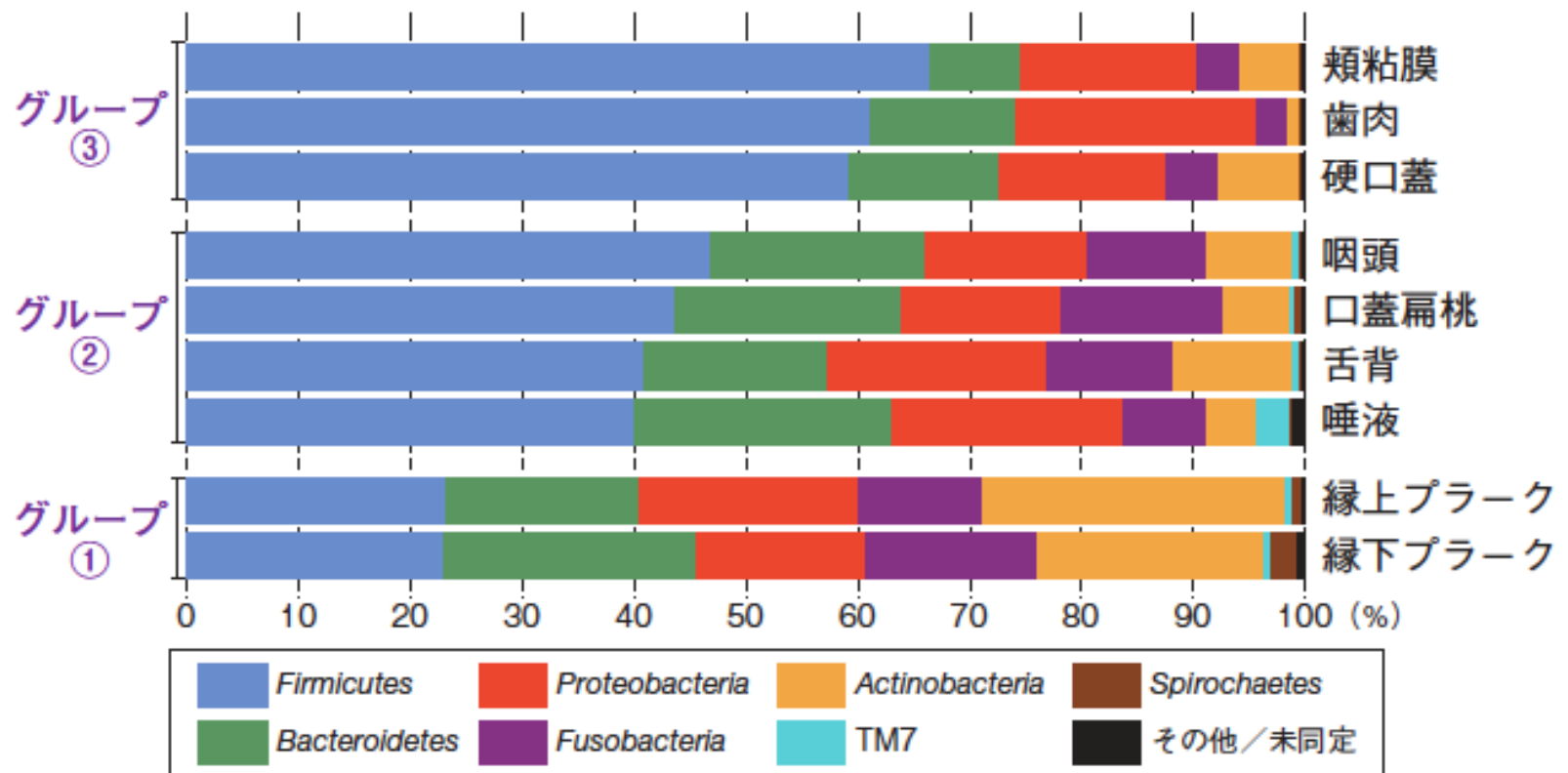
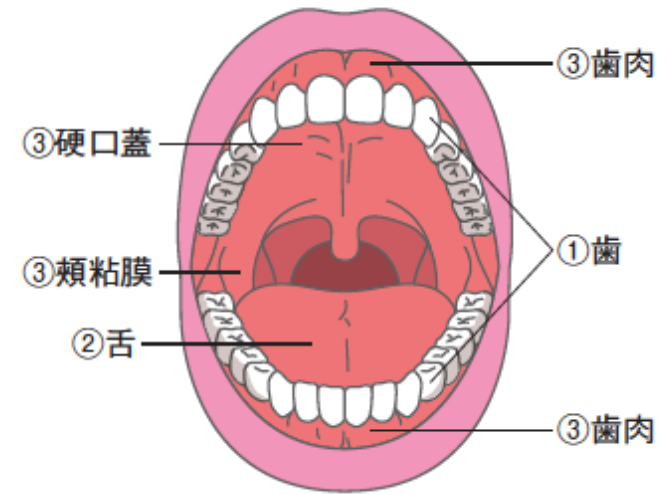
得られたメタゲノムのプロファイルを用いて2型糖尿病のリスクを予測



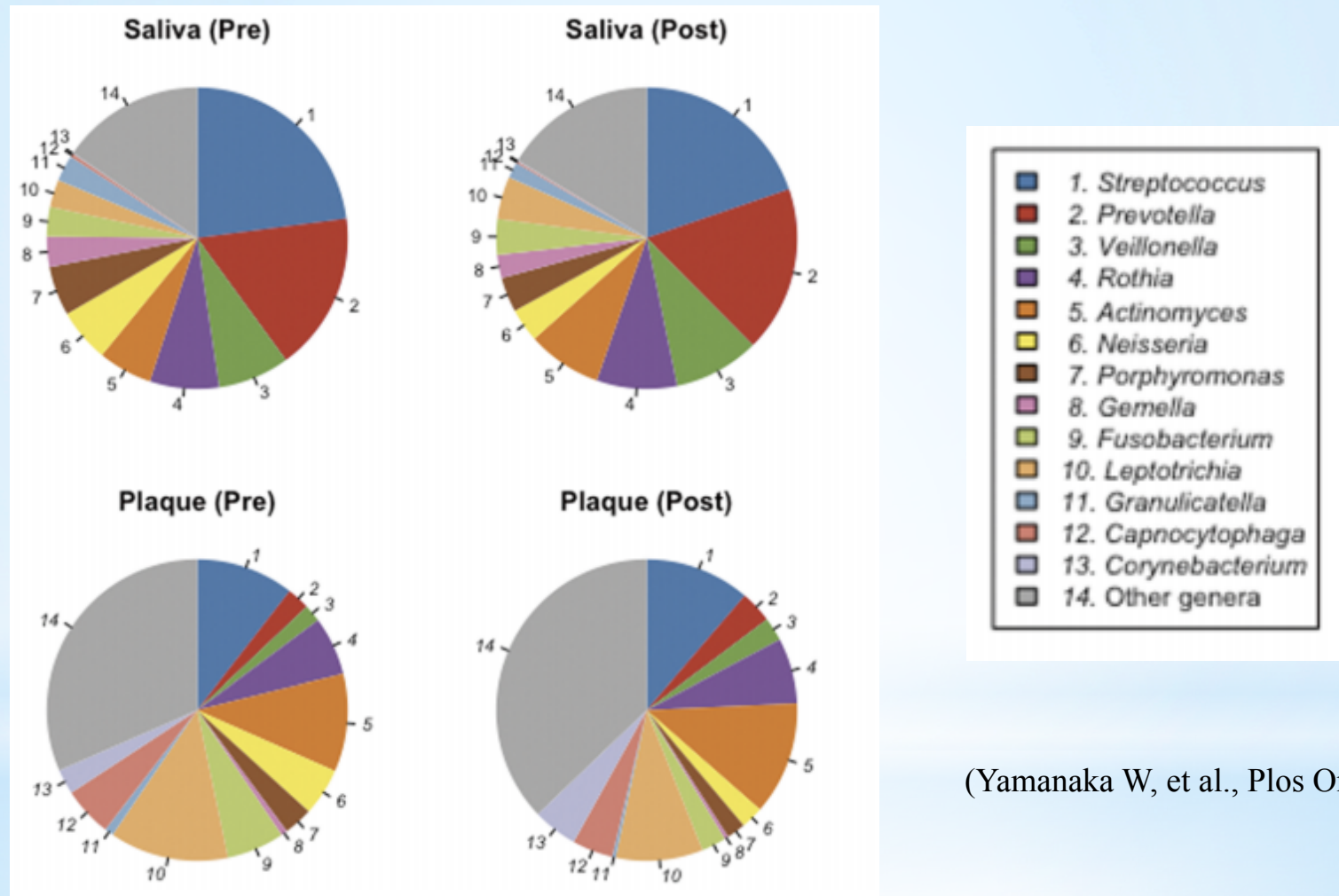
口腔の部位別のフローラの構成

歯面：動的な細菌群集
う蝕や歯周病に関連

粘膜面：比較的安定な細菌群集
誤嚥性肺炎や口臭との関連が示唆
されている



歯周治療前後の唾液およびプラーク中のフローラの構成



(Yamanaka W, et al., Plos One, 2012)

唾液中のフローラの構成は歯周病治療前後でも大きな変動を認めない

経管栄養と口腔常在フローラ

要介護高齢者における経管栄養法の施行が近年急増している

目的

栄養、水分の確実な投与

介護負担の軽減

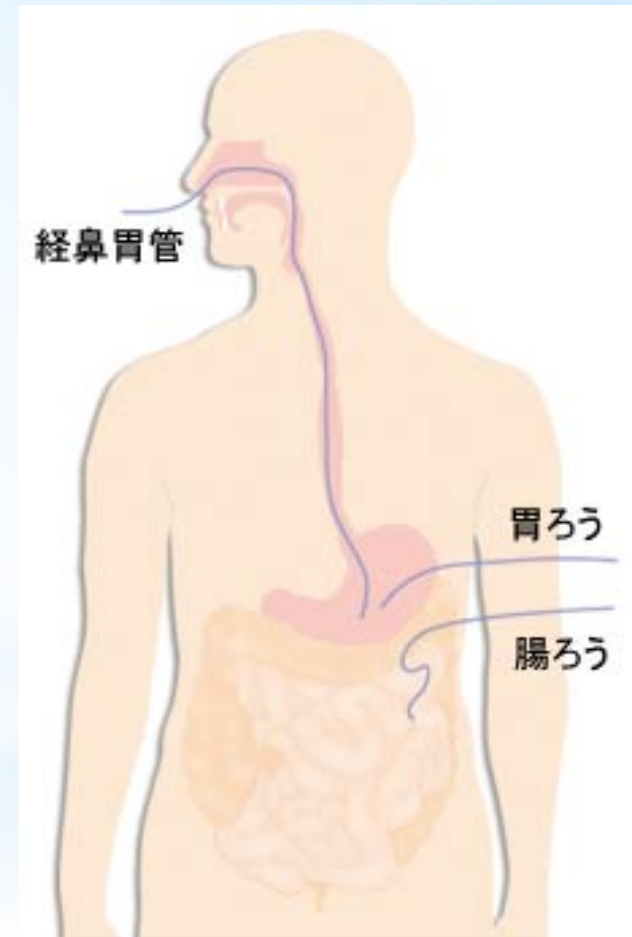
摂食時の誤嚥の防止 → 誤嚥性肺炎の予防

しかし、経管栄養の施行は患者の予後を改善しないとの報告も多数ある。

(Finucane *et al.*, 1996; Abuksis *et al.*, 2000; Murphy *et al.*, 2003; Rothan-Tendeur *et al.*, 2003; Janssens *et al.*, 2004 ; Kuo *et al.*, 2009)

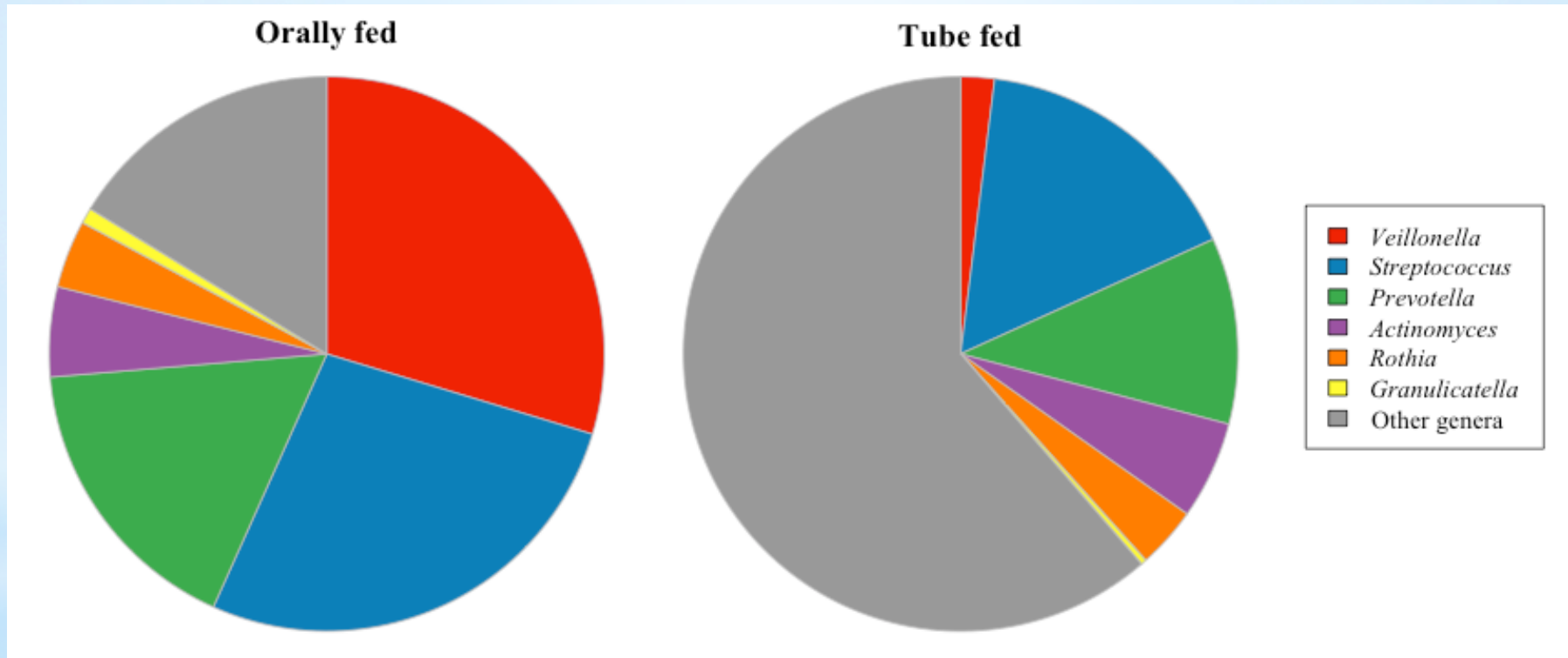


経管栄養施行患者の口腔フローラは？



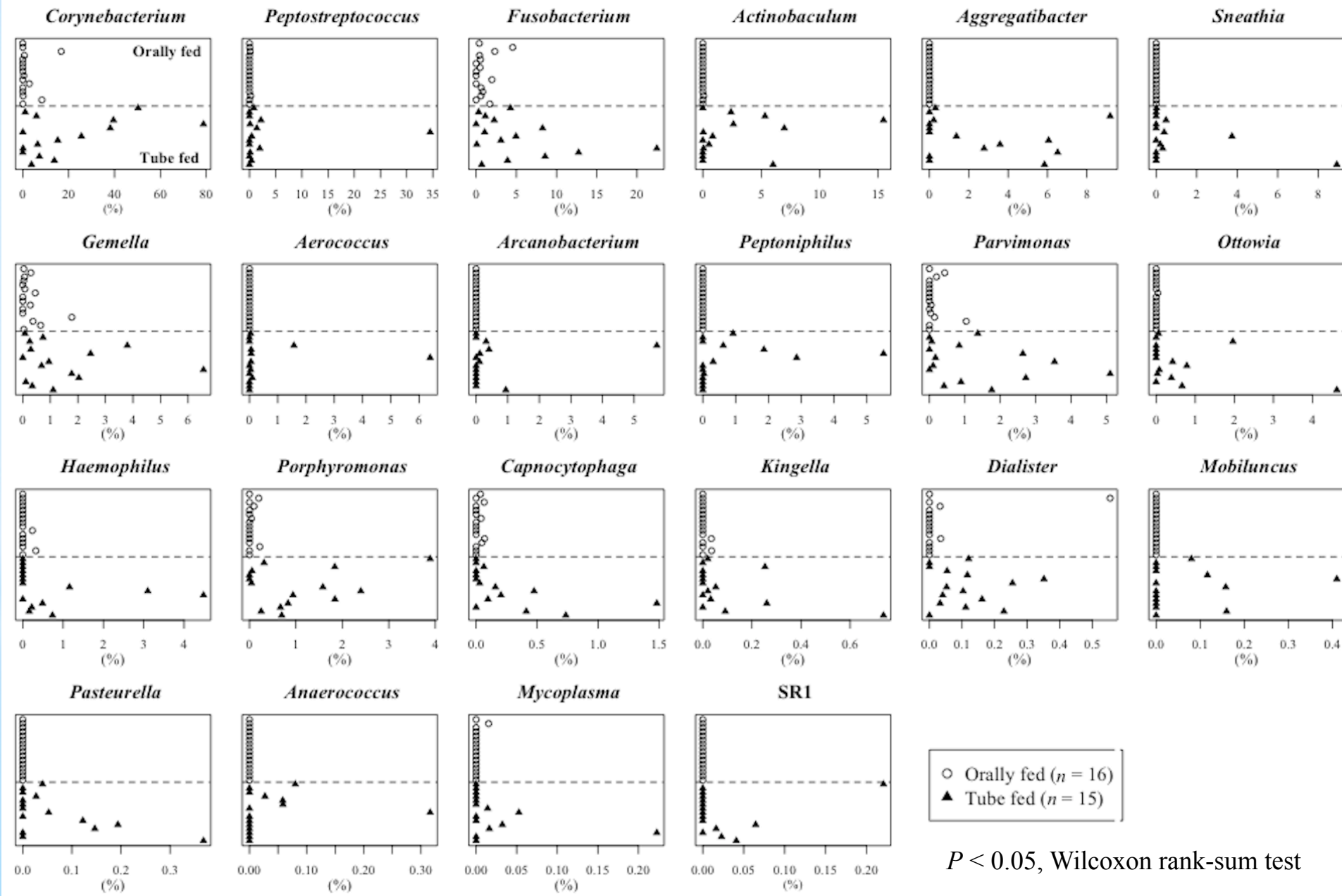
両群の唾液中の細菌構成 (菌属レベル)

経口摂食群16名、胃瘻群15名について、Barcoded pyrosequencing 法で舌苔フローラ構成の詳細な解析を行った。

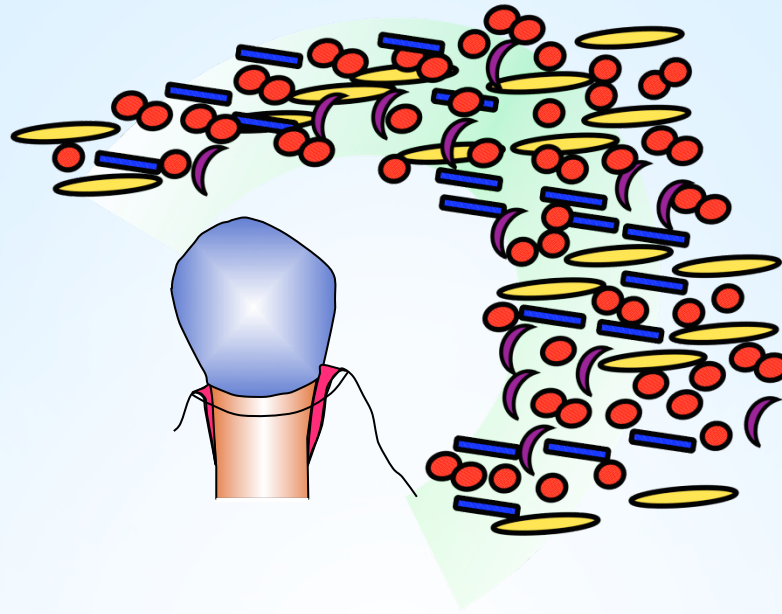


胃瘻群において口腔フローラの構成比率が劇的に変化した

経管栄養群で有意に優勢な22菌属



口腔常在フローラの構成バランスは宿主の健康状態と密接に関連している



- ・「健康な」口腔フローラ構成を定義する
- ・疾患ごとの口腔フローラのプロファイルの確立



疾患の新規診断法の開発

口腔フローラの観点からの予防・治療の開発へ