

経管栄養患者と経口摂取者の
口腔・咽頭細菌叢の検索
-次世代シーケンスによる解析-

秋枝 俊江

大学院歯学独立研究科 健康増進口腔科学講座

(主指導教員：小笠原 正)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士（歯学）学位申請論文

The bacterial flora analysis of palate, tongue and
pharyngeal in patients with tube feeding by Next
Generation Sequencing

Toshie Akieda

Department of Oral Health Promotion, Graduate School of Oral
Medicine

(Chief Academic Advisor : Professor Tadashi Ogasawara)

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph. D. in Dentistry

要介護高齢者は、病院や介護療養病床で嚥下障害、意識障害等を有し、必要な水分・栄養を経口で摂取させるために経管栄養が用いられる。口腔は、飲食物を通過する器官であり、摂食が口腔や咽頭への細菌叢の構成に影響を与えていると考えられる。経管栄養者と経口摂取者における口蓋、舌、咽頭の細菌叢の類似性や違いが明らかになれば、口腔内状態や呼吸器感染への影響を知るための情報になり得ると思われる。さらに細菌叢に与えている要因を明らかにすることにより今後の口腔や咽頭の細菌叢と各種疾患との関連に示唆を与える基礎的データになり得る考える。

そこで、経口摂取者と経管栄養者の口蓋・舌・咽頭における細菌叢を網羅的に検出できる次世代シーケンス・メタゲノム解析により比較検討し、細菌叢に影響を与えている要因を主成分分析と相関比を用いて検索した。

対象者は、山梨県内のA病院と沖縄県内のB病院に入院中の経管栄養の要介護高齢者20名(男性14名、女性6名、平均年齢 80.2 ± 7.3 歳)と沖縄県内の特別養護老人ホームCと長野県内の特別養護老人ホームDに入所中の経口摂取の要介護高齢者19名(男性5名、女性14名、平均年齢 86.2 ± 11.5 歳)であった。調査手順は、患者情報を転記(栄養摂食状況、年齢、性別、疾患)した。また寝たきり度、意識レベル、意思疎通の有無の状況、残存歯の有無、う蝕の有無、CPIの検査を行った。サンプル採取は、スワブにて口蓋、舌、咽頭を20回擦過し、DNA保存液に浸して保存した。各種サンプルから細菌DNAを抽出、1stPCR、次世代シーケンス・メタゲノム解析を行い細菌の種類と構成率を評価した。

細菌叢の多様性を示すShannon指数、細菌構成率について口蓋、舌、咽頭における経管群と経口群の比較をMann-Whitney U検定で行った。経管群と経口群のそれぞれについて口蓋・舌・咽頭の3群間の比較をFriedman検定にて行った。サンプルごとのそれぞれの細菌叢の類似性は、主成分分析を行った。要因検索は、年齢、性別、寝たきり度、意識レベル、意思疎通、9つの疾患、CPI、残存歯の有無、齲蝕、摂食状況(経管と経口)の18項目と細菌叢との関連性の検討は、第1主成分分析の得点結果から相関比を求めた。要因検索は、項目間の関連性を χ^2 検定にて検討し、18項目間の

相関行列を作成し、独立した項目かつ有意な相関比を要因として抽出した。経管群と経口群における口蓋の Shannon 指数は、経管群 3.3 ± 0.8 、経口群 3.9 ± 1.1 であり、咽頭も経管群が有意に低かった。舌は、有意差を認めなかった。経管群と経口群における口蓋・舌・咽頭の Shannon 指数の平均は、経管と経口で3群間に有意な差を認めなかった。経管群と経口群における細菌構成率は、口蓋、舌、咽頭において、*Neisseria* 属、*Streptococcus* 属、*Rothia* 属が全体の 60～70%以上を占めていた。口蓋では、*Neisseria* 属 (29.8%)と *Rothia* 属 (16.6%)が、経管群で有意に多く、舌で、*Neisseria* 属 (28.9%)、*Streptococcus* 属 (22.5%)、*Rothia* 属 (21.3%)が経管群で有意に多く、咽頭で、*Neisseria* 属 (34.0%)、*Streptococcus* 属 (24.3%)、*Rothia* 属 (14.7%)が有意に多く検出された。

主成分分析では、口蓋、舌、咽頭において細菌叢は明確な違いが認められ、口蓋・舌・咽頭における細菌叢と各項目との関連性は、口蓋、舌、咽頭ともに相関比が最も高く、相関行列から独立性が認められたものは、経管と経口のみであった。それぞれ、口蓋における経管と経口の相関比は $0.423 (P < 0.01)$ 、舌の相関比は経管と経口が $0.517 (P < 0.01)$ 、咽頭の相関比は経管と経口が $(0.518 : P < 0.01)$ となった。

細菌の酸素要求性の比較は、口蓋で好気性菌の割合が経管群に有意に多く、舌で好気性菌と通性嫌気性菌の割合が経管群に有意に多かった。咽頭は、好気性菌と通性嫌気性菌の割合が、経管群で有意に多かった。

本研究の結果から、経管栄養者の口蓋、舌、咽頭の細菌叢は共通しており、好気性菌の構成比率が有意に高く、*Neisseria* 属、*Streptococcus* 属、*Rothia* 属が優占菌種であり、経管・経口が細菌叢を規定する独立した要因として認められた。

経管栄養と経口摂取の要介護高齢者における
口蓋・舌・咽頭の細菌叢の検索
-次世代シーケンスによる解析-

秋枝 俊江

大学院歯学独立研究科 健康増進口腔科学講座
(主指導教員:小笠原 正)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士(歯学)学位申請論文

The bacterial flora analysis of palate, tongue and
pharyngeal in patients with tube feeding by Next
Generation Sequencing

Toshie Akieda

Department of Oral Health Promotion, Graduate School of Oral
Medicine

(Chief Academic Advisor: Professor Tadashi Ogasawara)

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph. D. in Dentistry

要旨

経管栄養者の細菌叢と細菌叢に与えている要因を明らかにするために経管栄養患者と経口摂取者の口蓋・舌・咽頭における細菌叢を次世代シーケンス解析(NGS)により比較検討し、細菌叢に影響を与えている要因を主成分分析と相関比を用いて検索した。対象は、経管栄養者 20 名と経口摂取者 19 名の要介護高齢者とした。入院記録より年齢、性別、疾患、寝たきり度を確認し、Japan Coma Scale、意識レベル、意思疎通の有無を記録し、残存歯とう蝕の有無、CPI 測定を行った。検体採取は、口蓋、舌、咽頭をスワブ法にて実施し、通法に従い次世代シーケンス・メタゲノム解析を行い、細菌の種類と構成率を評価した。

Shannon 指数は、経管群が口蓋と咽頭において経口群よりも有意に低かった。経管群は、口蓋、舌、咽頭で好気性菌が経管群より有意に多かった。通性嫌気性菌は、舌と咽頭で経管群に有意に多く認めた。経管群における口蓋、舌、咽頭の構成比率は共通し、*Neisseria* 属、*Streptococcus* 属、*Rothia* 属が上位を占めた。各部位における 2 群間での主成分分析は、口蓋の第 1 主成分における寄与率は、21.3%、舌で 32.7%、咽頭で 30.1%であった。相関比は、いずれの部位でも「経管と経口」の要因が最も高く、口蓋で 0.423 ($P < 0.01$)、舌で 0.517 ($P < 0.01$)、咽頭で 0.518 ($P < 0.01$)となった。細菌叢と最も関連のある要因は、「経管と経口」であり、経管栄養者の口蓋、舌、咽頭の細菌叢は、好気性菌が多く、多様性が低く偏っていることが共通していた。

緒言

要介護高齢者における経管栄養の実施割合は、介護療養病床で 62.2%¹⁾、病院で 63.3%¹⁾とされている。経管栄養の適応は、嚥下障害、意識障害等を有し、必要な水分・栄養を摂取させるために経管栄養が用いられる²⁾。要介護高齢者における経口摂取者と経管栄養者の舌は、緑膿菌(検出者率 25%)の検出が多く、次いで肺炎桿菌(検出者率 11%)、セラチア(検出者率 14%)、MRSA(検出者率 4%)が検出されたと報告されている³⁾。経口摂取の要介護高齢者の咽頭は、レンサ球菌と *Neisseria* が経管栄養者より有意に高い検出率⁴⁾であったと報告されている。口腔は、飲食物を通過する器官であり、摂食が口腔や咽頭への細菌叢の構成に影響を与えている結果と思われる。しかしながら、これらの結果は培養検査法にて 10 種類の細菌について検査されたもので、それ以外の細菌については不明である。

近年、遺伝子解析技術が発達し、これまで検出できなかった細菌を次世代シーケンス・メタゲノム解析にて検出可能となっている。次世代シーケンス・メタゲノム解析は、サンプルより得られた細菌の遺伝子情報によって網羅的に細菌の菌種と構成比を知ることができるものである。経管栄養者と経口摂取者における舌⁵⁾や健康成人者の口腔と咽頭の細菌叢⁶⁾は、次世代シーケンス・メタゲノム解析を用いて報告されている。しかし、経管栄養者と経口摂取者の口蓋、舌、咽頭の細菌叢を比較検討した報告は見当たらない。経管栄養者と経口摂取者における口蓋、舌、咽頭の細菌叢の類似性や違いが明らかになることにより、口腔内状態や呼吸器感染への影響を知るための情報になり得ると思われる。さらに細菌叢に与えている要因を明らかにすることにより今後の口腔や咽頭の細菌叢と各種疾患との関連に示唆を与える基礎的データになり得ると考える。

そこで、経管栄養者の細菌叢と細菌叢に与えている要因を明らかにするために経口摂取者と経管栄養者の口蓋・舌・咽頭における細菌叢を次世代シーケンス解析(NGS)により比較検討するとともに、細菌叢に影響を与えている要因を主成分分析と相関比を用いて検索した。

対象と方法

1. 対象者

山梨県内の A 病院と沖縄県内の B 病院に入院中の経管栄養の要介護高齢者と沖縄県内の特別養護老人ホーム C と長野県内の特別養護老人ホーム D に入所中の経口摂取の要介護高齢者を対象とした。経管栄養の調査対象者は、46 名に調査を依頼し、同意の得られた 21 名としたが、1 名調査期間中に死亡したため、最終調査対象者は 20 名（男性 14 名、女性 6 名、平均年齢 80.2 ± 7.3 歳）であった。経口摂取の調査対象者は、同意の得られた 19 名（男性 5 名、女性 14 名、平均年齢 86.2 ± 11.5 歳）であった。

本研究は、松本歯科大学倫理委員会の承認（承認番号：257）を得たうえで実施した。

2. 調査手順

入院・入所記録から患者情報として栄養摂食状況、年齢、性別、疾患について調査用紙に転記した。また寝たきり度（障害老人の日常生活自立度（寝たきり度判定基準，平成 3 年厚生省），意識レベル（Japan Coma Scale），意思疎通の有無の状況は、ベッドサイドにて直接確認した。ミラーと懐中電灯を用いて口腔内診査を実施し、残存歯の有無，う蝕の有無，プローブを使用して CPI 検査を施行した。

3. サンプル採取

生理食塩液（NORMAL SALINE SYRINGE OTSUKA 20ml®）で湿らせたスワブ（Forensic Swab®）を用いてスワブ法にて行った。対象部位である口蓋と舌は中央部をスワブにて 20 回擦過した。咽頭では、舌圧子で圧排しながら直視にて咬合平面に垂直に咽頭後壁をスワブにて 20 回擦過した。サンプル採取時間は、経管摂取者で食事の影響がないため 9 時から 17 時の間に行い、経口栄養者は、食後 1 時間から 2 時間で実施した。その後、擦過したスワブを DNA 保存液（DNA/RNA Shield ZYR 50ml®）の入った遠沈管（ビオラモ遠沈管 15ml 1-3500-21 AS ONE®）に入れて、攪拌機にて約 1 分間攪拌し、懸濁液を冷蔵保存した。

4. 細菌 DNA の抽出・次世代シーケンス・メタゲノム解析

各種サンプルから DNA 抽出キット（MORA-EXTRACT®）を使用し、細

菌 DNA を抽出した。次に PCR 法にて DNA 増幅した後に口腔常在微生物叢解析センターへ冷蔵にて送付し、通法^{5, 6, 7)}に従い次世代シーケンス・メタゲノム解析 (16S rDNA の V3-V4 領域, リード長 200bp~500bp) を行い、各種サンプルの塩基配列を解読し、細菌の種類と構成率を評価した。

5. 分析方法

細菌叢の多様性を示す Shannon 指数、細菌構成率について経管群と経口群でいずれかで 1% 以上の細菌について口蓋、舌、咽頭における経管群と経口群の比較を Mann-Whitney U 検定で行った。経管群と経口群のそれぞれについて口蓋・舌・咽頭の 3 群間の比較を Friedman 検定にて行った。サンプルごとのそれぞれの細菌叢の類似性を明らかにするために主成分分析を行った。要因検索は、年齢、性別、寝たきり度、意識レベル、意思疎通、疾患 (脳血管疾患・循環器疾患・糖尿病・呼吸器疾患・消化器疾患・泌尿器疾患・整形外科疾患・眼疾患・その他疾患)、CPI、残存歯の有無、齲蝕、摂食状況 (経管と経口) の 18 項目と細菌叢との関連性の検討は、主成分分析により得られた第 1 主成分のサンプル得点を用いて各項目との相関比を求めた。各項目の独立性の検討は、項目間の関連性を χ^2 検定にて検討し、18 項目間の相関行列を作成し、有意差が認められた 2 項目のうち相関比の高いものを残し、細菌叢の独立要因とした。

なお Mann-Whitney U 検定と χ^2 検定は SPSS Ver.23.0® を使用し、有意水準を $\alpha=0.05$ とした。主成分分析は株式会社アイスタット マルチ多変量解析ソフト Ver. 1.1®, 相関比は Excel 統計解析ソフト Ver.8.4 を使用した。

結果

1. 患者背景

経管栄養患者は男性 14 名、女性 6 名、平均年齢は 80.2 ± 7.3 歳で、経口摂取者は男性 5 名、女性 14 名、平均年齢は 86.2 ± 11.5 歳であった。障害老人の日常生活自立度は C1 が 2 名、C2 が 18 名、A1 が 4 名、A2 が 3 名、B1 が 1 名、B2 が 11 名で 12 名が JCS II (刺激で覚醒するレベル) であった。主な疾患は、脳血管疾患が 20 名、呼吸器疾患が 14 名、循環器疾患が 21 名であった (表 1)。いずれの施設も両群ともに 1 日 2 回の口腔ケアが行われ、

経管群の無歯顎者は粘膜ケアのみ、有歯顎者は歯ブラシによる歯面清掃と粘膜ケア、経口群は歯ブラシによる歯面清掃が実施されていた。

2. 多様性

1) 経管群と経口群の多様性

口蓋の Shannon 指数は、経管群 3.3 ± 0.8 、経口群 3.9 ± 1.1 であり、経管群が有意に低かった。咽頭においては、経管群 3.2 ± 0.8 、経口群 4.1 ± 0.7 であり、口蓋と同様に咽頭においても経管群が有意に低かった。舌は、経管群 3.4 ± 0.7 、経口群 3.9 ± 0.8 であり、平均値で経管群が低かったが、有意差を認めなかった。

2) 経管群および経口群における口蓋・舌・咽頭の多様性

Shannon 指数の平均は、経管群で口蓋 3.3 ± 0.8 、舌 3.4 ± 0.7 、咽頭 3.2 ± 0.8 であり、3 群間で有意差は認められなかった。経口群は口蓋 3.9 ± 1.1 、舌 3.9 ± 0.8 、咽頭 4.1 ± 0.7 で 3 群間に有意な差を認めなかった（表 2）。

(1) 口蓋

検出された細菌の数は経管群で 115 細菌属、経口群で 97 細菌属、そのうち経管群と経口群において、どちらかが 1% 以上であった細菌は 21 属が検出された。経管群の各種細菌の構成比率の平均は *Neisseria* 属が 29.8%，*Streptococcus* 属は 18.4%，*Rothia* 属 16.6% の順に多く、全体の 60% 以上を占め、いずれも検出者率は 100% であった。*Neisseria* 属と *Rothia* 属は、経管群で有意に多く検出された。経口群は *Streptococcus* 属 25.5%，*Rothia* 属 12.0%，*Actinomyces* 属 11.8% で全体の 40% 以上を占めた。*Streptococcus* 属と *Actinomyces* 属は、経管群に比べ有意に多かった。経管群と経口群の上位 3 細菌属の検出率は、いずれも 100% であった（表 3-a）。

(2) 舌

経管群と経口群は、それぞれ 107 の細菌属と 87 の細菌属が検出された。経管群は、*Neisseria* 属が 28.9%，*Streptococcus* 属 22.5%，*Rothia* 属 21.3% で、全体の 70% 以上を占めた。これらの属は、経口群と比較して経管

群で有意に多く検出された。経口群は *Prevotella* 属が 20.4%, *Neisseria* 属 12.3%, *Streptococcus* 属 11.6%, *Actinomyces* 属 11.6% で全体の 50% 以上を占めた。*Prevotella* 属と *Actinomyces* 属は、経管群より有意に多かった(表 3-b)。

(3) 咽頭

経管群と経口群は、それぞれ 110 の細菌属と 107 の細菌属が検出された。経管群は、*Neisseria* 属 34.0%, *Streptococcus* 属 24.3%, *Rothia* 属 14.7% で全体の 70% 以上を占める結果であった。これらの細菌は、経口群に比べて有意に多かった。経口群は、*Prevotella* 属 18.0%, *Neisseria* 属 15.4%, *Streptococcus* 属 15.1% で、全体の 45% 以上を占めた。*Prevotella* 属は、経管群に比べ有意に多かった(表 3-c)。

3. 主成分分析

(1) 口蓋

口蓋の第 1 主成分における寄与率は、21.3%, 第 2 主成分の寄与率は、14.0% となり、累積寄与率は 35.3% であった。第 1 主成分におけるサンプルに付与された得点は経口群で有意に高く、第 2 主成分では有意差が認められなかった。経口群は第 1 象限と第 4 象限に位置し、経管群は X 軸 0, Y 軸 -4.0 ~ 2.0 を中心にクラスターとなり、明確に区分された(図 1-a)。

(2) 舌

舌における第 1 主成分の寄与率は、32.7%, 第 2 主成分の寄与率は 14.5% となり、累積寄与率は 47.2% であった。第 1 主成分のサンプル得点は、経口群が有意に高かった。第 2 主成分では両群間に有意差は認められなかった。経口群は、第 1 象限と第 4 象限に広く位置したクラスターとなり、経管群は第 2 象限と第 3 象限にクラスターを作っていた(図 1-b)。

(3) 咽頭

咽頭の第 1 主成分の寄与率は 30.1%, 第 2 主成分が 14.6%, 累積寄与率は 44.7% であった。第 1 主成分でのサンプル得点は経管群で有意に高く、第 2 主成分では両群間に有意差を認めなかった。経口群は第 1 と第 4 象限を中心に広くプロットされ、経管群は第 2, 3 象限に縦上に集約された(図 1-

c).

4. 口蓋・舌・咽頭における細菌叢と各項目との関連性

(1) 口蓋

細菌叢との関連性として相関比が有意であったのは、18項目中3項目であった。経管と経口の相関比は0.423 ($P < 0.01$)、意識レベルが0.231 ($P < 0.01$)、意思疎通が0.249 ($P < 0.01$)であった。さらに、相関行列から独立性が認められたものは、経管と経口のみであった(表 4-a)。

(2) 舌

舌で有意な相関比が認められたのは、18項目中6項目であった。相関比は経管と経口が0.517 ($P < 0.01$)、意識レベル0.223 ($P < 0.01$)、意思疎通0.249 ($P < 0.01$)、呼吸器疾患0.191 ($P < 0.01$)、循環器疾患0.149 ($P < 0.01$)、泌尿器疾患0.167 ($P < 0.01$)であった。相関行列より細菌叢に関連した独立要因として抽出されたのは、経口と経管のみであった(表 4-b)。

(3) 咽頭

咽頭における有意な相関比は、経管と経口(0.518: $P < 0.01$)、意識レベル(0.245: $P < 0.01$)、意思疎通(0.260: $P < 0.01$)、呼吸器疾患(0.172: $P < 0.01$)、泌尿器疾患(0.169: $P < 0.01$)の5項目Ⅱ認められた。独立した要因として抽出されたのは、経管と経口のみであった(表 4-c)。

5. 細菌の酸素要求性の比較

(1) 口蓋

経管群における好気性菌の割合の中央値は、36.0%、経口群の中央値は、7.4%で経管群に有意に多かった。通性嫌気性菌の中央値は、経管群で36.0%、経口群で28.3%であった。嫌気性菌は、経管群で5.7%、経口群で16.5%となった。通性嫌気性菌と嫌気性菌は、いずれも有意差を認めなかった(図 2-a)。

(2) 舌

好気性菌の中央値は、経管群で23.9%、経口群で7.7%となり、通性嫌気性菌は、経口群で12.2%、経管群で42.6%といずれも経管群が有意に多か

った．一方，嫌気性菌は，経管群 3.2%，経口群 51.9%と、経口群が有意に多いことが認められた(図 2-b)．

(3) 咽頭

経管群の好気性菌の中央値は 33.7%，経口群で 8.3%，通性嫌気性菌における経管群は 45.9%，経口群で 21.8%であり，好気性菌と通性嫌気性菌は，経管群が有意に多かった．経管群の嫌気性菌は 6.7%，経口群で 37.5%であり，嫌気性菌は経口群で有意に多かった(図 2-c)．

考察

健康成人の口腔や咽頭の細菌叢は，歯，舌，口蓋，頬粘膜，咽頭などにおいて部位特異性があることが報告されている⁷⁻¹⁰⁾．本研究においても経口摂取者の口蓋，舌，咽頭の細菌叢は異なり，さらに各部位での細菌叢は経口群と経管群で明らかに異なることが認められた．細菌の種類の豊富さと均等度を示す多様性(Shannon 指数)は，経管群で低く，経口群で高かった．検出された細菌属の種類は 3 部位ともに経管群の方が多かったので，経管群の細菌叢は偏りがあることが示された．また 3 部位に共通して経口群に比較して経管群に好気性菌が有意に多かった．経管群と経口群の細菌叢の違いについての独立した要因は，経管・経口であり，年齢や歯の存在，疾患，歯周疾患との関連性は明らかでなかった．経管・経口という環境が口蓋、舌、咽頭の細菌叢に関与していた．そして舌と咽頭では，通性嫌気性菌が経口群より有意に多いことが認められた．つまり経管群の口蓋，舌，咽頭には酸素の影響下にある細菌が多いことになる．経管群は，開口や口腔乾燥が多く¹¹⁻¹³⁾，経管群の口腔内は、酸素の曝露を受けた環境であり，細菌叢はその影響を受けている．一方，経口群は好気性菌と通性嫌気性菌の割合が低く，嫌気性菌が有意に多いことが舌と咽頭で認められた．口蓋で経口群の嫌気性菌が中央値と平均値で経管群より高いものの有意でなかったのは，外気と近接していることとサンプル数の影響があると考えられた．

口蓋細菌叢の第 1 優占菌種は，経口群で通性嫌気性菌である *Streptococcus* 属であった．この結果は，Nicola ら⁶⁾の報告と同様であった．本研究の *Streptococcus* 属の平均構成率は 25.5%で，Nicola ら⁶⁾は

Streptococcus 属の構成率は約 40%とされている. これは本研究の数字が細菌構成率の平均値であり, 対象者が日本人で平均年齢が 86 歳であったが, Nicola⁶⁾は総細菌数における *Streptococcus* 属の割合であり, 18~40 歳までの米国での対象者であるので, 一概に比率を比較できない. しかし, 本研究における経口群の優占菌種は, *Streptococcus* 属以外で通性嫌気性菌の *Rothia* 属 (平均 12.0%), 嫌気性菌の *Actinomyces* (平均 11.8%) であり, 優占菌種は Nicola⁶⁾と同様であった. これらの 3 菌種とも検出者率が 100% 口腔常在菌である.

経管群の口蓋細菌叢の第 1 優占菌種は, 好気性菌の *Neisseria* 属であり, 細菌構成率の平均が 29.8%で経口群よりも有意に高かったことは, 前述の酸素曝露を受けた影響と考えられた. 口蓋細菌叢の優占菌種としては, 通性嫌気性菌の *Streptococcus* 属 (18.4%)と *Rothia* 属 (16.6%)が挙げられた. 3 種の優占菌種の細菌構成率は全体の 60%以上を占め, 検出者率はいずれも 100%であり, 嫌気性菌の比率は低かった.

舌における経口群の細菌叢の第 1 優占菌種は嫌気性菌の *Prevotella* 属 20.4%であった. 他の優占菌種は口蓋と類似した傾向を示し, *Neisseria* 属 12.3%, *Streptococcus* 属 11.2%, *Rothia* 属 11.0%, 嫌気性菌の *Actinomyces* 属 11.6%と *Veillonella* 属 9.0%で, 全体の 75%以上であり, 嫌気性菌が 41%を占めた. 舌では, 好気性菌の占める比率が低く, 嫌気性菌の占める割合の多いことが舌の細菌叢の特徴であり, 本研究結果の優占菌種は, Takeshita ら¹⁴⁾や Nicola ら⁶⁾の報告と同様であった. Takeshita ら¹⁴⁾は, 経口摂取の高齢者 (平均年齢 85.1 歳) であり, Nicola ら⁶⁾は健康成人が対象者なので, 年齢の影響が少なく, 経口摂取者という要因が舌の細菌叢を規定していると考えられた.

経管群における舌の細菌叢は比率が異なるものの経管群の口蓋と同様に第 1 優占菌種は好気性菌の *Neisseria* 属 (28.9%) であり, *Streptococcus* 属 (22.5%), *Rothia* 属 (21.3%)が多く, 3 菌種で 72.7%を占め, 他の細菌は, 4%未満であり, 偏った細菌叢であった. 3 つの優占菌種の検出者率はいずれも 100%であった. 経口群で細菌構成比率が高かった嫌気性菌の *Prevotella* 属, *Actinomyces* 属, *Veillonella* 属は, 経管群ではすべて 2%

以下であり、細菌構成比率が有意に低かった。舌において経口群では嫌気性菌が多く占めていたが、経管群では嫌気性菌が有意に低く、偏っていたことが特徴であった。Takeshita ら¹⁴⁾は経管群の舌から *Streptococcus* 属や *Rothia* 属が多く検出されが、経口群より少なく他の細菌種が 50%以上を占めたと報告である。本研究結果の *Streptococcus* 属と *Rothia* 属が経管群で有意に多く、優占菌種以外は 30%未満とする結果と異なっていた。調査対象者の背景は大きく変わらないと思われるが、Takeshita ら¹⁵⁾の検体採取は、プラスチックパチュラにて舌背部を擦過したものであった。本研究は滅菌綿棒のスワブで擦過したものであり、Takeshita らの研究¹⁴⁾ではより深い部分の検体採取を行っていると考えられた。しかしながら、嫌気性菌の *Prevotella* 属、*Veillonella* 属、*Actinomyces* 属が経管群で減少したとする結果¹⁴⁾は、本研究と類似した傾向であった。

咽頭における経口群の細菌叢の第 1 優占菌種は嫌気性菌の *Prevotella* 属 18.0%で舌と同じであった。他の優占菌種も口蓋や舌と類似した細菌叢を呈しており、*Neisseria* 属 15.4%、*Streptococcus* 属 15.1%、*Rothia* 属 7.0%、*Actinomyces* 属 9.6%で、65%を占めていた。咽頭においても優占菌種は Nicola ら⁶⁾の結果と類似していた。

経管群の咽頭の細菌叢は、口蓋と舌の細菌叢と同様に優占菌種の構成率順位は同じであり、*Neisseria* 属 (34.0%)、*Streptococcus* 属 (24.3%)、*Rothia* 属 (14.7%)であり、検出者率はいずれも 100%であった。これは、経管群は酸素の影響が口腔内だけでなく、咽頭まで影響し、細菌叢を規定していたと言える。

本研究結果における経管群の口蓋、舌、咽頭の優占菌種の 3 菌種は一定の割合を占めていた。培養法では誤嚥性肺炎の原因菌として嫌気性菌が 73.9~100%¹⁵⁻¹⁷⁾と高い検出率であったものの、次世代シーケンスの細菌叢解析により *Streptococcus* 属が要介護者の院内肺炎と医療介護関連肺炎の誤嚥性肺炎における第 1 優占菌種として最も検出率 (42.9%)が高く、嫌気性菌は少なかった (4.8%)¹⁸⁾と報告されている。またそれぞれの肺炎で解析された結果として医療介護関連肺炎における誤嚥性肺炎の第 1 優占菌種として *Streptococcus* 属が 23.2%¹⁴⁾、院内肺炎では 16.2%²⁰⁾とする報告があり、

Streptococcus 属は肺炎の病態や原因として重要な役割を果たしている可能性^{21)・22)}を指摘している。*Streptococcus* 属は、口蓋、舌、咽頭において経口群と経管群の両群において優占菌種であったが、気管に近い咽頭において経管群の方が高い細菌構成率であり、誤嚥のリスクがあるがゆえに経管群は誤嚥性肺炎のリスクが一層高いことが示唆される。*Neisseria* 属は、医療介護関連肺炎として 2.4%、院内肺炎では 8.8%の検出頻度¹⁹⁾であったとされている。*Rothia* 属は心内膜炎²³⁾や口腔からの血行性感染による肺放線菌症²⁴⁾の報告はあるが、誤嚥性肺炎の原因菌としての報告は見当たらない。

本研究は、次世代シーケンス解析により培養できない細菌も含めて網羅的に経管群の口蓋、舌、咽頭の細菌叢の全容を解明した。経口群と経管群は明らかに異なり、経管群で好気性菌の構成比率が高くなれば、嫌気性菌が減少するといった細菌叢のバランスがあり、経管栄養という口腔内の環境変化による細菌叢の違いを明らかにした。しかしながら、本研究は横断的であり、歯面清掃や保湿を加えた粘膜ケアによる細菌叢の変化は明らかになっていない。また誤嚥性肺炎との関連について考察したが、誤嚥性肺炎発症時の口腔や咽頭の細菌叢でなく、誤嚥性肺炎の原因菌と口腔の細菌叢との関連も明らかでない。今後は、口腔と咽頭の細菌叢と全身の影響を明らかにするために、さらなる研究の蓄積が必要である。

結 論

経管栄養者の口蓋、舌、咽頭の細菌叢は共通しており、好気性菌の構成比率が有意に高く、*Neisseria* 属、*Streptococcus* 属、*Rothia* 属が優占菌種であり、経管・経口が細菌叢を規定する独立した要因として認められた。

謝 辞

稿を終わるにあたり、御懇篤なるご指導と御校閲を賜りました松本歯科大学大学院歯学独立研究科 健康増進口腔科学講座 主指導教員 小笠原 正 教授に深く感謝申し上げます。また調査にご協力を賜りました方およびご家族、施設関係者に感謝申し上げます。調査施設との対応を引き受けてくださったちむわざ歯科の島田茂先生、調査実施に

協力してくださった松本歯科大学の朝比奈滉直先生，まつむらデンタルクリニックの松村康平先生と荘司舞様，広島大学の宮原康太先生に御礼申し上げます．

本研究は JSPS 科研費 18K09897 の助成を受けたものである．

参考文献

- 1) 武久洋三，小山英雄，高橋奏，清水紘，中川翼，小笠原俊夫，添原彰，安藤高朗，桑名斎，熊谷頼佳，進藤晃，池端幸彦，猿原孝行，鉾之原大助．医療が必要な要介護高齢者のための長期療養施設の在り方に関する調査研究事業．日本慢性期医療協会 2016;25-29
- 2) 経管栄養管理ガイドライン．東京医科大学茨城医療センター2009;5 (4)1-3
- 3) 梅安秀樹，弘中祥司，村田尚道，向井 美恵．要介護高齢者における日和見感染菌と全身状況との関連．老年歯学 2008;23(2):106 - 114
- 4) 内藤浩美，大橋一之，神部芳則，草間 幹夫．長期経管栄養者における口腔環境に関する検討-唾液 pH と歯周疾患罹患状況，咽頭細菌叢について-．口科誌 2003;52(4):181 - 187
- 5) 竹下徹，山下喜久．口腔常在微生物叢の構成と健康との関連．JSLAB 2016;27:3-9
- 6) Nicola Segata, Susan Kinder, Perter Mannon, Katherine P Lemon, Levi Waldron, Dirk Gevers, Curtis Huttenhower, Jacques Izard. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. Genome Biology 2012;(13)42R, 1-18
- 7) Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol 2005;43(11):5721-32.
- 8) Eren AM, Borisy GG, Huse SM, Mark Welch JL. Oligotyping

- analysis of the human oral microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111(28):E2875-84.
- 9) Preza D, Olsen I, Willumsen T, Grinde B, Paster BJ. Diversity and site-specificity of the oral microflora in the elderly. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28(9):1033-40.
 - 10) Simon-Soro A, Tomas I, Cabrera-Rubio R, M D Catalan, B Nyvad, A Mira. Microbial geography of the oral cavity. *J Dent Res* 2013;92(7):616-21.
 - 11) 小笠原 正, 川瀬 ゆか, 磯野 員達, 岡田 芳幸, 齋島 弘之, 沈 發智, 遠藤 眞美, 落合 隆永, 長谷川 博雅, 柿木 保明. 要介護高齢者における剥離上皮の形成要因 舌背, 歯, 頬粘膜. *老年歯科医学* 2014;29(1):11-20.
 - 12) Kawase Y, Ogasawara T, Kawase S, Wakimoto N, Matsuo K, Fa-Chih Shen, Hasegawa H, Kakinoki Y. Factors affecting the formation of membranous substances in the palates of elderly persons requiring nursing care. *Gerodontology* 2014;31(3):184-93.
 - 13) Ogasawara T, Andou N, Kawase S, Kawase Y, Matsuo K, Ozaki Y, Kakinoki Y. Potential factors responsible for dryness of the dorsum of the tongue in elderly requiring care. *Gerodontology* 2008;25(4):217-21.
 - 14) Takeshita T, Yasui M, Tomioka M, Nakano Y, Shimazaki Y, Yamashita Y. Enteral tube feeding alters the oral indigenous microbiota in elderly adults. *Appl Environ Microbiol.* 2011 ; 77(19):6739-45
 - 15) Bartlett JG, Gorbach SL. Treatment of aspiration pneumonia and primary lung abscess. Penicillin G vs clindamycin. *Jama* 1975;234(9):935-7.
 - 16) Bartlett JG, Gorbach SL, Finegold SM. The bacteriology of aspiration pneumonia. *Am J Med* 1974;56(2):202-7.

- 17) Lorber B, Swenson RM. Bacteriology of aspiration pneumonia. A prospective study of community- and hospital-acquired cases. *Ann Intern Med* 1974;81(3):329-31.
- 18) Akata K, Yatera K, Yamasaki K, Kawanami T, Naito K, Noguchi S, Fukuda K, Ishimoto H, Taniguchi H, Mukae H. The significance of oral streptococci in patients with pneumonia with risk factors for aspiration: the bacterial floral analysis of 16S ribosomal RNA gene using bronchoalveolar lavage fluid. *BMC Pulm Med* 2016;16(1):79.
- 19) Noguchi S, Mukae H, Kawanami T, Yamasaki K, Fukuda K, Akata K, Ishimoto H, Taniguchi H, Yatera K. Bacteriological assessment of healthcare-associated pneumonia using a clone library analysis. *PLoS One* 2015;10(4):e0124697.
- 20) Yatera K, Noguchi S, Yamasaki K, Kawanami T, Fukuda K, Naito K, Akata K, Kido T, Ishimoto H, Sakamoto N, Taniguchi H, Mukae H. Determining the Possible Etiology of Hospital-Acquired Pneumonia Using a Clone Library Analysis in Japan. *Tohoku J Exp Med* 2017;242(1):9-17.
- 21) 野口 真, 矢寺 和. 【超高齢社会における肺炎診療を考える-成人肺炎診療ガイドライン 2017 のインパクト】細菌叢解析法からわかった原因菌と検出菌との相違. *医学のあゆみ* 2018;265(3):207-10.
- 22) 野口 真, 矢寺 和, 迎 寛. 呼吸器感染症の細菌叢解析による新発見. *Medical Technology* 2017;45(5):530-33.
- 23) Tarumoto N, Sujino K, Yamaguchi T, Umeyama T, Ohno H, Miyazaki Y, Maesaki S. A First Report of *Rothia aeria* Endocarditis Complicated by Cerebral Hemorrhage. *Internal Medicine* 2012;51(23):3295-99.
- 24) 冷牟田 浩人, 鶴田 伸子, 松山 友美, 佐竹 真理恵, 大楠 清文, 樋口 和行. *Rothia aeria* による初の呼吸器感染症の 1 例. *日呼*

吸会誌 2010;48(3):219-23.

図表

表 1. 対象者背景

		経管群 (n=20)	経口群 (n=19)	<i>p</i>
年齢 (歳) ***		80.2±7.3	86.2±11.5	0.01
性別 (名) **	男性	14	5	0.01
	女性	6	14	
寝たきり度 (名) *	A1		4	0.00
	A2		3	
	B1		1	
	B2		11	
	C1	2		
	C2	18		
意識レベル (名) * (Japan Coma Scale)	I 覚醒	8	19	0.00
	II 刺激で覚醒	12		
意思疎通 (名) *	可	7	19	0.00
	不可	13		
疾患 (名)	脳血管疾患	12	8	0.34
	循環器疾患	8	13	0.11
	呼吸器疾患	11	3	0.02
	消化器疾患	6	6	1.00
	泌尿器疾患	9	3	0.08
	整形外科疾患	5	5	1.00
	眼疾患	2	5	0.24
	糖尿病	5	7	0.50
	その他疾患	18	14	0.24
残存歯 (名)	あり	15	13	0.73
	なし	5	6	
義歯使用 (名) *	あり	0	12	0.00
	なし	20	7	
CPI (名)	無歯顎	5	6	0.66
	1	2	4	
	2	8	5	
	3	1	1	
	4	4	2	

Mann-Whitney U test *: $P < 0.05$

Fisher test **: $P < 0.01$

X²検定 ***: $P < 0.01$

表 2. 多様性の比較 Shannon 指数

	口蓋		舌		咽頭		各部位の比較
経管群	3.3 ± 0.8] $P = 0.038$	3.4 ± 0.7] $P = 0.166$	3.2 ± 0.8] $P < 0.001$	$P = 0.44$
経口群	3.9 ± 1.1		3.9 ± 0.8		4.1 ± 0.7		$P = 0.241$

経管群と経口群 : Mann-Whitney U 検定

部位での比較 : Friedman 検定

Shannon 指数 : 菌種の数や菌種の構成比率の偏り度、つまり多様性を示す

数値である。経管群の細菌叢は経口群より Shannon 指数が低い。検出された細菌は経管群の方が多いため構成比率が一樣である傾向を示している。経口群は多様性が高く、菌種の構成比率に偏りがあることを示している。

表 3-a. 口蓋における細菌構成率と検出者率

口蓋 (%)						
	細菌構成率			検出者率		
	経管群	経口群	<i>P</i> 値	経管群	経口群	<i>P</i> 値
<i>Neisseria</i>	29.8±16.6	6.6±7.8	<0.01	100.0	94.7	0.49
<i>Streptococcus</i>	18.4±13.3	25.5±15.1	0.11	100.0	100.0	—
<i>Rothia</i>	16.6±12.8	12.0±17.7	0.08	100.0	100.0	—
<i>Haemophilus</i>	4.7±8.0	4.9±8.2	0.86	100.0	94.7	0.49
<i>Agrobacterium</i>	3.2±13.9	0.0±0.0	0.11	30.0	0.0	0.02
<i>Fusobacterium</i>	3.2±3.8	2.3±2.5	<0.01	95.0	73.7	0.04
<i>Aggregatibacter</i>	2.6±4.1	0.1±0.3	<0.01	95.0	47.3	<0.01
<i>Porphyromonas</i>	2.4±2.1	1.1±1.6	<0.01	100.0	73.7	0.02
<i>Prevotella</i>	2.1±2.3	8.4±8.6	0.02	100.0	94.7	0.49
<i>Lactobacillus</i>	1.9±8.5	0.0±0.0	0.18	35.0	10.5	0.13
<i>Pseudomonas</i>	1.6±3.8	0.2±0.9	<0.01	65.0	10.5	<0.01
<i>Moraxella</i>	1.4±4.4	0.0±0.0	<0.01	60.0	5.3	<0.01
<i>Actinomyces</i>	1.3±18	11.8±14.7	<0.01	100.0	100.0	—
<i>Delftia</i>	1.0±2.6	2.8±5.6	0.24	80.0	84.2	1.00
<i>Veillonella</i>	0.4±1.6	5.3±6.0	<0.01	50.0	94.7	<0.01
<i>Ralstonia</i>	0.4±1.1	1.2±2.3	0.26	45.0	63.2	0.34
<i>Gemella</i>	0.4±0.6	3.8±4.9	<0.01	85.0	94.7	0.61
<i>Corynebacterium</i>	0.1±0.1	1.0±1.4	0.10	40.0	52.6	0.53
<i>Leptotrichia</i>	0.0±0.1	1.9±4.0	<0.01	25.0	78.9	<0.01
<i>Caulobacter</i>	0.0±0.0	1.2±2.4	0.07	5.0	36.8	0.02
<i>Megasphaera</i>	0.0±0.0	1.2±1.9	<0.01	10.0	78.9	<0.01

細菌構成率:Mann-Whitney U 検定

検出者率:X²検定

表 3-b. 舌における細菌構成率と検出者率

舌 (%)						
	細菌構成率			検出者率		
	経管群	経口群	<i>P</i> 値	経管群	経口群	<i>P</i> 値
<i>Neisseria</i>	28.9±11.4	12.3±14.6	<0.01	100.0	100.0	—
<i>Streptococcus</i>	22.5±15.3	11.2±12.7	<0.01	100.0	100.0	—
<i>Rothia</i>	21.3±10.9	11.0±14.8	<0.01	100.0	100.0	—
<i>Haemophilus</i>	3.7±4.2	4.5±5.1	0.67	95.0	100.0	1.00
<i>Fusobacterium</i>	3.5±4.9	3.5±4.2	0.88	95.0	89.5	0.61
<i>Aggregatibacter</i>	3.0±3.7	0.1±0.2	<0.01	90.0	36.8	<0.01
<i>Porphyromonas</i>	2.1±1.4	0.9±1.8	<0.01	95.0	94.7	1.00
<i>Prevotella</i>	2.0±1.6	20.4±14.6	<0.01	95.0	100.0	1.00
<i>Peptostreptococcus</i>	1.1±2.1	0.4±0.9	0.27	85.0	63.1	0.08
<i>Ottowia</i>	1.0±1.6	0.0±0.1	<0.01	85.0	42.1	<0.01
<i>Actinomyces</i>	0.9±1.0	11.6±11.8	<0.01	90.0	100.0	0.49
<i>Gemella</i>	0.8±0.9	1.4±1.6	0.16	80.0	100.0	0.11
<i>TM7_[G-1]</i>	0.3±0.7	1.5±1.9	0.02	70.0	89.5	0.24
<i>Veillonella</i>	0.0±0.2	9.0±5.4	<0.01	25.0	100.0	<0.01
<i>Leptotrichia</i>	0.0±0.0	5.1±7.0	<0.01	10.0	100.0	<0.01
<i>Megasphaera</i>	0.0±0.0	2.2±2.5	<0.01	10.0	89.4	<0.01

細菌構成率:Mann-Whitney U 検定

検出者率:X²検定

表 3-c. 咽頭における細菌構成率と検出者率

咽頭 (%)						
	細菌構成率			検出者率		
	経管群	経口群	<i>P</i> 値	経管群	経口群	<i>P</i> 値
<i>Neisseria</i>	34.0±15.7	15.4±15.7	<0.01	100.0	89.5	0.23
<i>Streptococcus</i>	24.3±16.3	15.1±10.0	0.08	100.0	100.0	—
<i>Rothia</i>	14.7±10.2	7.0±13.2	<0.01	100.0	100.0	—
<i>Haemophilus</i>	5.5±11.0	3.3±3.5	0.67	95.0	94.7	1.00
<i>Aggregatibacter</i>	3.2±3.8	0.1±0.4	<0.01	95.0	52.6	<0.01
<i>Actinomyces</i>	2.2±3.5	9.6±11.2	<0.01	95.0	100.0	1.00
<i>Porphyromonas</i>	2.2±2.2	1.4±2.0	0.10	100.0	94.7	0.49
<i>Alloprevotella</i>	2.1±3.7	0.9±0.9	0.43	85.0	89.5	1.00
<i>GN02_[G-2]</i>	1.9±4.7	0.0±0.0	<0.01	50.0	0.0	<0.01
<i>Prevotella</i>	1.8±2.3	18.0±11.6	<0.01	100.0	100.0	—
<i>Fusobacterium</i>	1.8±2.1	3.5±3.4	0.09	95.0	94.7	1.00
<i>Gemella</i>	1.0±1.4	1.7±1.5	0.03	100.0	100.0	—
<i>TM7_[G-1]</i>	0.2±0.4	1.3±1.3	<0.01	80.0	84.2	1.00
<i>Veillonella</i>	0.0±0.1	5.3±3.9	<0.01	60.0	100.0	<0.01
<i>Leptotrichia</i>	0.0±0.0	4.7±6.6	<0.01	30.0	89.4	<0.01
<i>Megasphaera</i>	0.0±0.0	2.5±2.8	<0.01	20.0	78.9	<0.01
<i>Caulobacter</i>	0.0±0.0	1.2±5.3	0.99	30.0	31.6	1.00

細菌構成率:Mann-Whitney U 検定

検出者率:X²検定

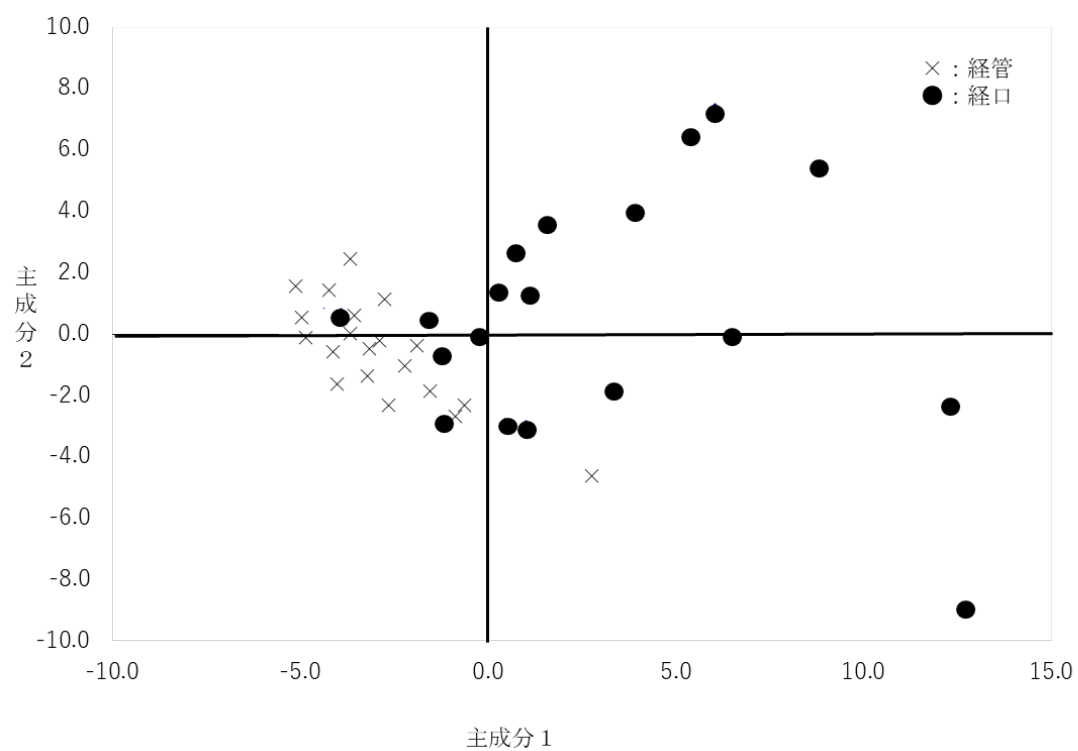


図1-a. 主成分分析による細菌叢からみたサンプルの類似性：口蓋
寄与率：第1主成分 21.3%、第2主成分 14.0%
1つのプロットが1人のサンプルを示す

主成分分析によるサンプル得点			
	第1主成分		第2主成分
経管	-2.8 ± 1.6		-0.5 ± 1.5
経口	2.9 ± 4.6	$P < 0.01$	0.6 ± 3.9
			$P = 0.30$

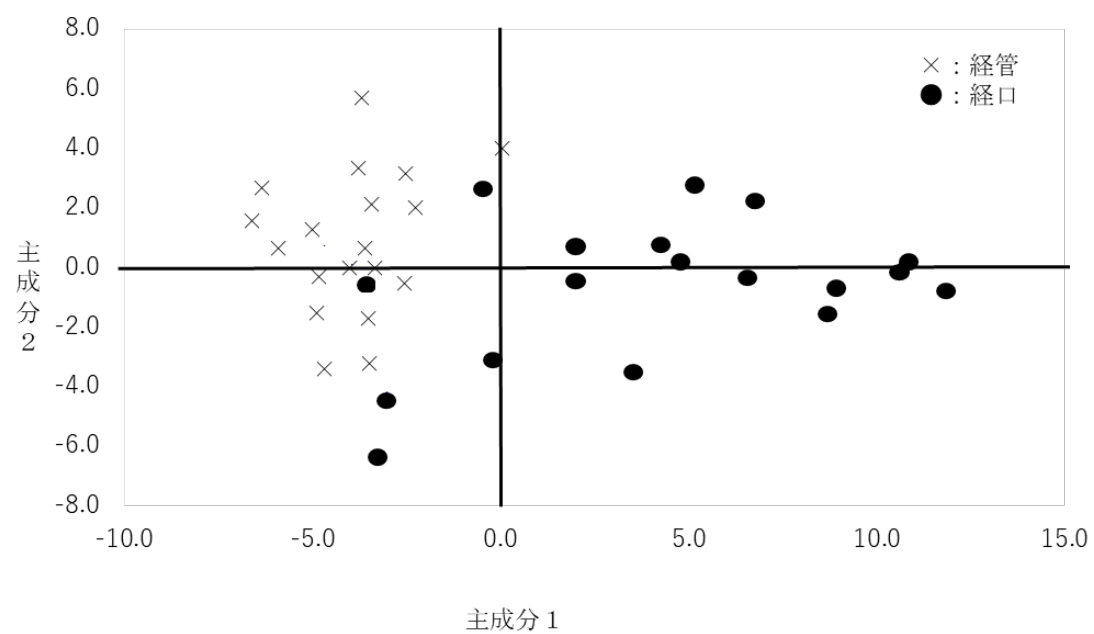


図1-b. 主成分分析による細菌叢からみたサンプルの類似性：舌
寄与率：第1主成分 32.7%、第2主成分 14.5%
1つのプロットが1人のサンプルを示す

主成分分析によるサンプル得点			
	第1主成分		第2主成分
経管	-3.8 ± 1.3	$P < 0.01$	0.7 ± 2.2
経口	3.8 ± 5.1		-0.7 ± 2.3
			$P = 0.15$

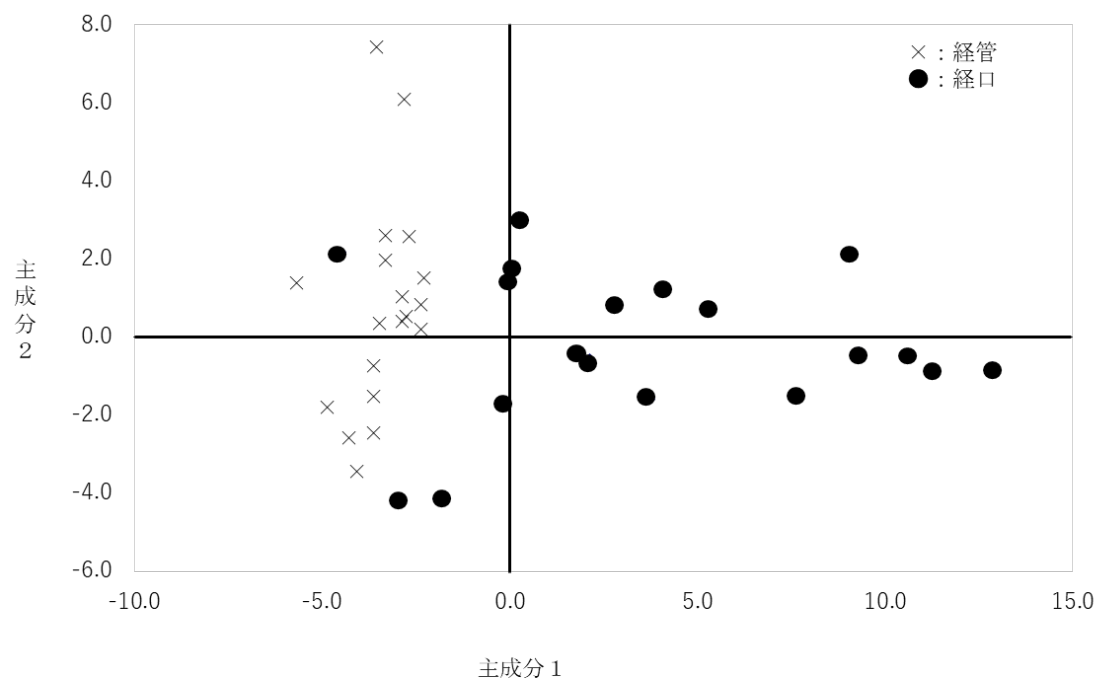


図1-c. 主成分分析による細菌叢からみたサンプルの類似性：咽頭
 寄与率：第1主成分 30.1%、第2主成分 14.6%
 1つのプロットが1人のサンプルを示す

主成分分析によるサンプル得点			
	第1主成分		第2主成分
経管	-3.5 ± 0.7	$P < 0.01$	0.2 ± 2.9
経口	3.7 ± 5.1		-0.2 ± 2.0
			$P = 0.99$

表 4-a. 細菌叢と各項目との関連性による相関行列：口蓋

相関比	0.423*	0.249*	0.231*	0.132	0.060	0.057	0.049	0.049	0.036	0.033	0.022	0.020	0.018	0.015	0.005	0.003	0.002
	経管と 経口	意思疎 通	意識レ ベル	CPI	泌尿器 疾患	循環器 疾患	糖尿病	整形外科 疾患	その他 疾患	性別	脳血管 疾患	消化器 疾患	呼吸器 疾患	年齢	齲蝕	歯の有 無	眼疾患
経管と経口		0.000	0.000	0.658	0.082	0.111	1.000	1.000	0.091	0.010	0.343	1.000	0.019	1.000	0.501	0.731	0.235
意思疎通			0.000	0.276	0.486	0.002	0.157	1.000	0.643	0.002	0.176	1.000	0.482	0.253	0.269	0.276	0.388
意識レベル				1.000	0.455	0.035	0.287	0.693	0.645	0.006	0.731	1.000	0.723	1.000	0.719	1.000	1.000
CPI					0.122	0.497	0.478	0.693	0.655	1.000	0.155	0.262	0.713	0.545	0.000	0.000	1.000
泌尿器疾患						1.000	0.477	0.693	0.645	0.501	1.000	0.455	0.723	0.539	0.501	0.122	0.654
循環器疾患							0.108	0.726	0.387	0.001	0.341	0.742	0.108	0.089	0.001	0.497	0.098
糖尿病								1.000	1.000	0.191	0.320	0.151	0.512	0.540	0.191	0.478	0.686
整形外科疾患									0.636	0.273	1.000	0.693	0.721	0.556	0.273	0.693	0.653
その他疾患										0.661	0.661	1.000	0.391	1.000	0.661	0.655	0.290
性別											0.205	0.731	0.191	0.106	0.731	1.000	0.407
脳血管疾患												0.301	0.514	0.605	0.205	0.155	0.235
消化器疾患													0.477	0.539	0.731	0.262	1.000
呼吸器疾患														0.289	0.191	0.713	0.036
年齢															0.539	0.545	1.000
齲蝕																0.000	1.000
歯の有無																	1.000
眼疾患																	

相関比 *: $P < 0.05$
 数字: X2検定 P値

表 4-b. 細菌叢と各項目との関連性による相関行列：舌

相関比	0.517*	0.249*	0.223*	0.056	0.167*	0.149*	0.002	0.011	0.031	0.051	0.022	0.001	0.191*	0.012	0.008	0.005	0.002
	経管と 経口	意思疎 通	意識レ ベル	CPI	泌尿器 疾患	循環器 疾患	糖尿病	整形外科 科疾患	その他 疾患	性別	脳血管 疾患	消化器 疾患	呼吸器 疾患	年齢	齲蝕	歯の有 無	眼疾患
経管と経口		0.000	0.000	0.658	0.082	0.111	1.000	1.000	0.091	0.010	0.343	1.000	0.019	1.000	0.501	0.731	0.235
意思疎通			0.000	0.276	0.486	0.002	0.157	1.000	0.643	0.002	0.176	1.000	0.482	0.253	0.269	0.276	0.388
意識レベル				1.000	0.455	0.035	0.287	0.693	0.645	0.006	0.731	1.000	0.723	1.000	0.719	1.000	1.000
CPI					0.122	0.497	0.478	0.693	0.655	1.000	0.155	0.262	0.713	0.545	0.000	0.000	1.000
泌尿器疾患						1.000	0.477	0.693	0.645	0.501	1.000	0.455	0.723	0.539	0.501	0.122	0.654
循環器疾患							0.108	0.726	0.387	0.001	0.341	0.742	0.108	0.089	0.001	0.497	0.098
糖尿病								1.000	1.000	0.191	0.320	0.151	0.512	0.540	0.191	0.478	0.686
整形外科疾患									0.636	0.273	1.000	0.693	0.721	0.556	0.273	0.693	0.653
その他疾患										0.661	0.661	1.000	0.391	1.000	0.661	0.655	0.290
性別											0.205	0.731	0.191	0.106	0.731	1.000	0.407
脳血管疾患												0.301	0.514	0.605	0.205	0.155	0.235
消化器疾患													0.477	0.539	0.731	0.262	1.000
呼吸器疾患														0.289	0.191	0.713	0.036
年齢															0.539	0.545	1.000
齲蝕																0.000	1.000
歯の有無																	1.000
眼疾患																	

相関比 *: $P < 0.05$
 数字: X2検定 P値

表 4-c. 細菌叢と各項目との関連性による相関行列：咽頭

相関比	0.518*	0.260*	0.245*	0.054	0.169*	0.096	0.000	0.005	0.028	0.057	0.001	0.000	0.172*	0.009	0.008	0.008	0.002
	経管と 経口	意思疎 通	意識レ ベル	CPI	泌尿器 疾患	循環器 疾患	糖尿病	整形外科 科疾患	その他 疾患	性別	脳血管 疾患	消化器 疾患	呼吸器 疾患	年齢	齲蝕	歯の有 無	眼疾患
経管と経口		0.000	0.000	0.658	0.082	0.111	1.000	1.000	0.091	0.010	0.343	1.000	0.019	1.000	0.501	0.731	0.235
意思疎通			0.000	0.276	0.486	0.002	0.157	1.000	0.643	0.002	0.176	1.000	0.482	0.253	0.269	0.276	0.388
意識レベル				1.000	0.455	0.035	0.287	0.693	0.645	0.006	0.731	1.000	0.723	1.000	0.719	1.000	1.000
CPI					0.122	0.497	0.478	0.693	0.655	1.000	0.155	0.262	0.713	0.545	0.000	0.000	1.000
泌尿器疾患						1.000	0.477	0.693	0.645	0.501	1.000	0.455	0.723	0.539	0.501	0.122	0.654
循環器疾患							0.108	0.726	0.387	0.001	0.341	0.742	0.108	0.089	0.001	0.497	0.098
糖尿病								1.000	1.000	0.191	0.320	0.151	0.512	0.540	0.191	0.478	0.686
整形外科疾患									0.636	0.273	1.000	0.693	0.721	0.556	0.273	0.693	0.653
その他疾患										0.661	0.661	1.000	0.391	1.000	0.661	0.655	0.290
性別											0.205	0.731	0.191	0.106	0.731	1.000	0.407
脳血管疾患												0.301	0.514	0.605	0.205	0.155	0.235
消化器疾患													0.477	0.539	0.731	0.262	1.000
呼吸器疾患														0.289	0.191	0.713	0.036
年齢															0.539	0.545	1.000
齲蝕																0.000	1.000
歯の有無																	1.000
眼疾患																	

相関比 *: $P < 0.05$
 数字: X2検定 P値

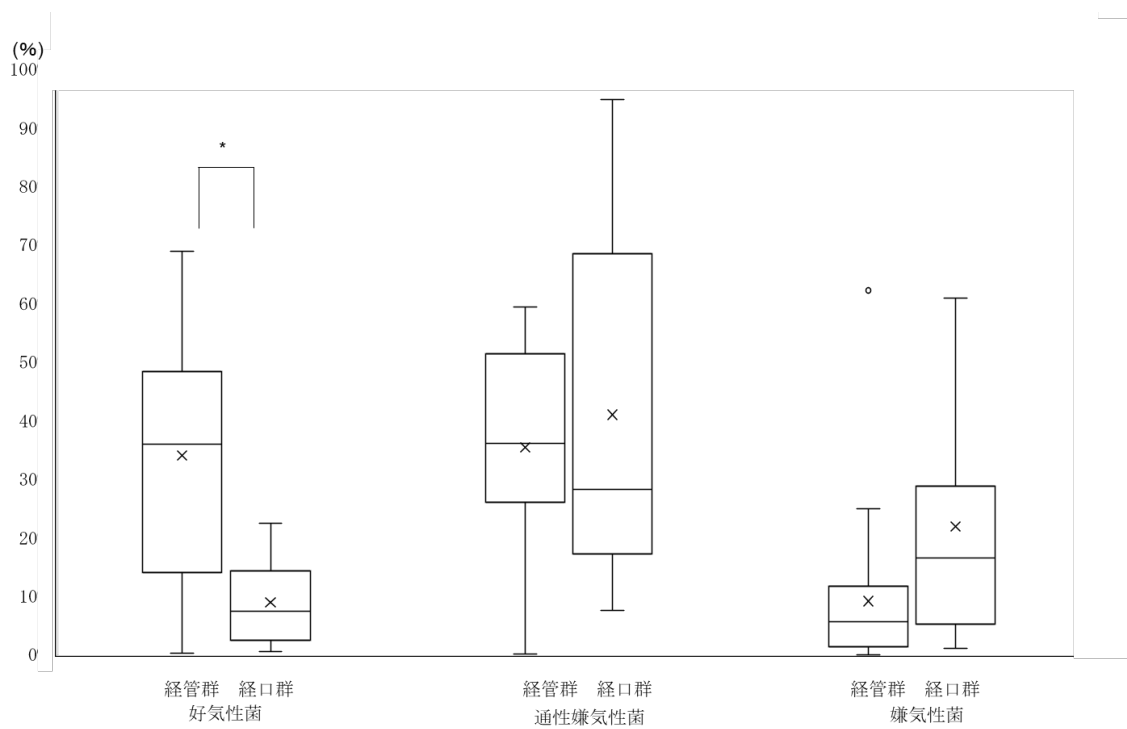


図 2-a. 細菌の酸素要求性の比較 (口蓋)

Mann-Whitney U test *: $P < 0.05$

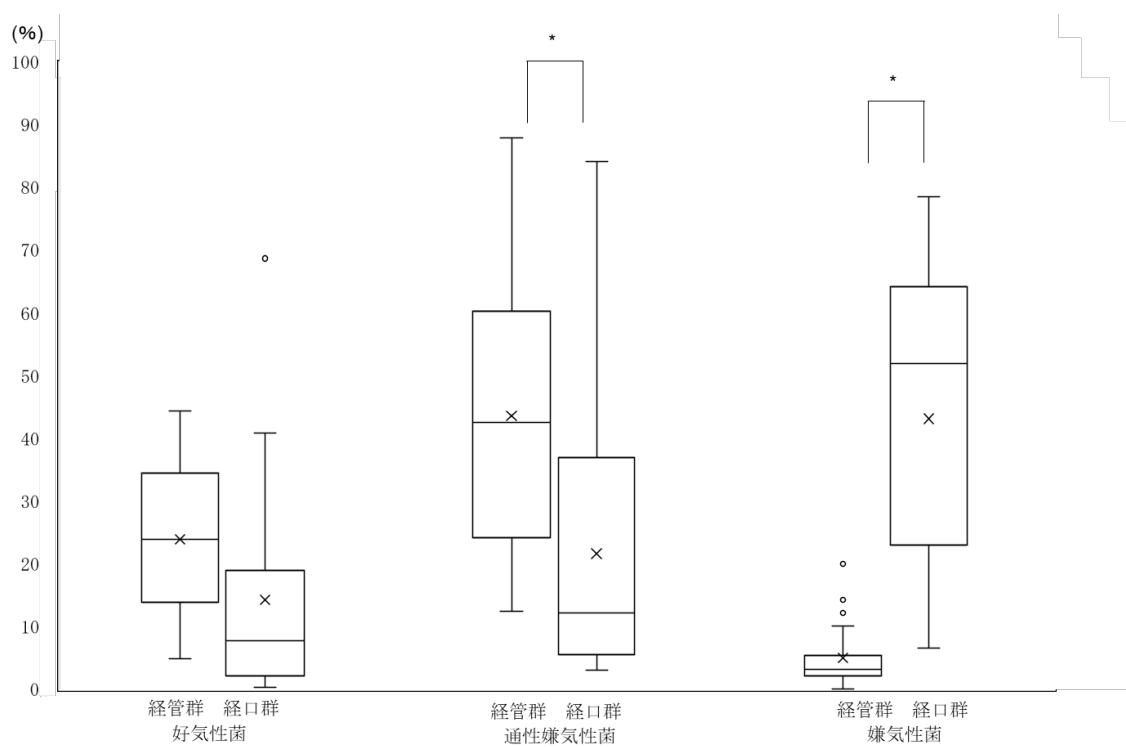


図 2-b. 細菌の酸素要求性の比較 (舌)
Mann-Whitney U test *: $P < 0.05$

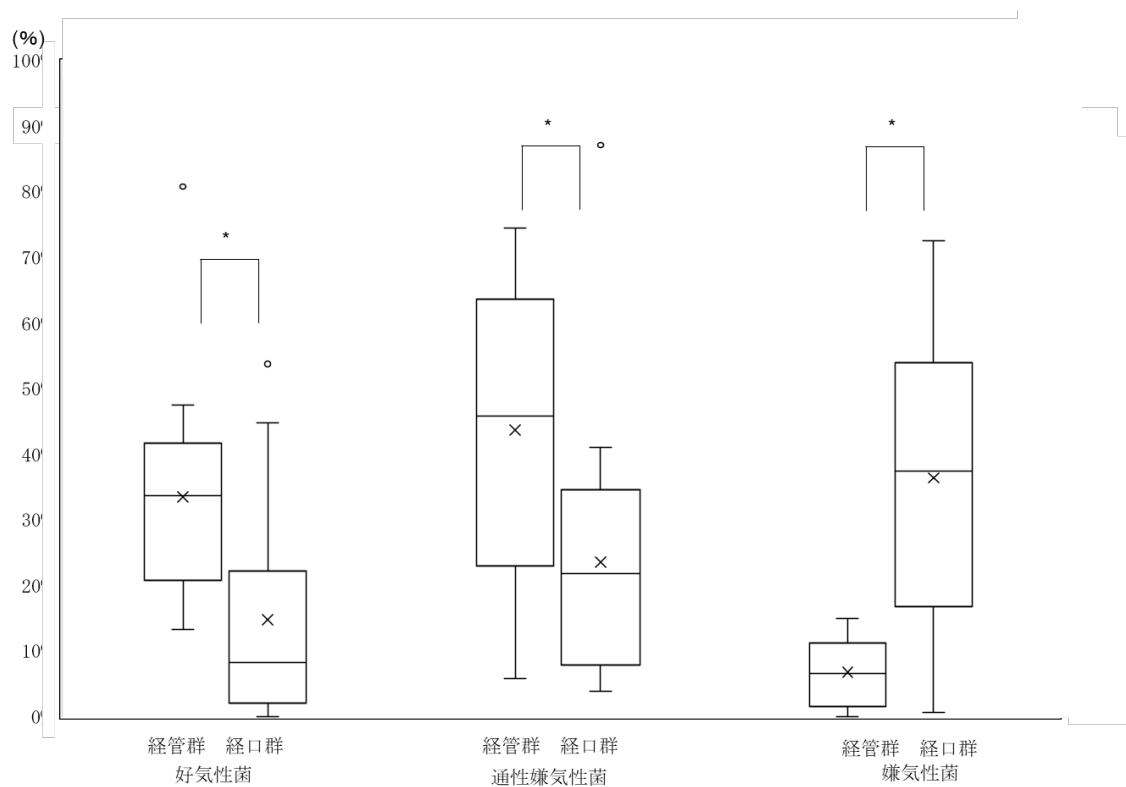


図 2-c. 細菌の酸素要求性の比較（咽頭）

Mann-Whitney U test *: $P < 0.05$

