

経管栄養患者と経口摂取者の口腔・咽頭細菌叢の検索 —一次世代シーケンスによる解析—

秋枝 俊江

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)

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,
Matsumoto Dental University
(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と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。