

学位論文

経管栄養の要介護高齢者の口蓋細菌叢に与える
剥離上皮膜の影響

朝比奈 滉直

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

Impact of membranous substances on palatal microbiota of
older Japanese individuals undergoing tube feeding in
nursing care

Hironao Asahina

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)

緒言

経管栄養法は経口摂取が困難な要介護高齢者の栄養維持のために広く用いられており、日本の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%、病院で 63.3%とされている¹⁾。経管栄養で意識障害が伴うような非経口摂取者は、常時開口がみられ、舌の低活動により、舌を介して唾液が口腔粘膜に付着せず、口腔粘膜が乾燥する。その結果、口腔粘膜や歯面に剥離上皮膜が形成されることがある^{2,3)}。経管栄養患者において、口蓋で 40.0%、舌背は 42.5%、歯面は 20%、頬粘膜は 17.5%の者に剥離上皮膜が観察されたとする報告がある^{2,3)}。さらに口腔に剥離上皮膜がある者のうち 70%の者が咽頭粘膜上に剥離上皮膜が観察されている⁴⁾。剥離上皮膜は、重層扁平上皮由来の角質変性物と唾液のムチンが主体となり、部分的に炎症性細胞や細菌の集積を認め、痰や痂皮とは異なる^{5,6)}。剥離上皮膜の一部は、口腔粘膜と結合しており、剥離上皮膜の除去時に出血する可能性がある⁷⁾。また剥離上皮膜が咽頭・喉頭に落下し、気道を閉塞させ、呼吸抑制や窒息となる危険性がある^{8,9)}。さらに剥離上皮膜形成者に有意に発熱が認められ¹⁰⁾、経管栄養と肺炎との関連が報告¹¹⁻¹³⁾されていることから、発熱原因として、除去時の出血部位からの局所感染や、咽頭・喉頭に落下した剥離上皮膜を介する口蓋粘膜細菌の呼吸器感染が考えられる。

経管栄養者の口腔内細菌叢として、舌苔から *Corynebacterium* 属、*Peptostreptococcus* 属、*Fusobacterium* 属が経口摂取者より有意に多く検出されたとする報告¹⁴⁾や、口蓋・舌背・咽頭から *Streptococcus* 属、*Rothia* 属、*Neisseria* 属が経口摂取者と比べ有意に多く検出されたとの報告¹⁵⁾がある。経管栄養者の口腔内細菌叢は経口摂取者と異なり^{14,15)}、経口摂取の有無が細菌叢に影響を及ぼすとされる¹⁵⁾。しかし、剥離上皮膜が存在する経管栄養者の口腔粘膜には、う蝕原因菌、歯周疾患関連菌、全身へ影響する細菌の存在は、明らかにされておらず、細菌学的為害性は不明である。

今回、経管栄養の要介護高齢者の口腔内のうち、剥離上皮膜が認められることの多い口蓋を対象として、次世代シーケンス 16s rRNA メタゲノム解析にて口蓋細菌叢を検索するとともに、経管栄養者の口蓋細菌叢に関連する因子について検討した。さらに剥離上皮膜の有無で口蓋細菌を比較検討した。

対象者および方法

1. 対象者

2017年5月から2019年5月までの間、山梨県内の病院 A、沖縄県内の病院 B と、沖縄県内の特別養護老人施設 C、D に入院・入所していた患者 44 名が対象となり、そのうち 19 名に代諾者より同意が得られた。全員が 65 歳以上の要介護高齢者で、経管栄養がなされ、一切経口摂取がされていない者であり、柿木の臨床診断基準¹⁶⁾で 1 度以上の口腔乾燥がみられるものを対象とした。調査対象者除外基準は Anderson¹⁷⁾、土肥¹⁸⁾の基準および、日本リハビリテーション医学会安全管理のためのガイドライン¹⁹⁾を一部改変し、設定した(表 1)。

すべての対象者は 1 日 1 回以上の口腔ケアが実施されていた。口腔ケアとして無歯顎者はガーゼやスポンジブラシなどでの粘膜擦拭、有歯顎者は歯ブラシによるケアもしくは、ガーゼやスポンジブラシによる粘膜擦拭のみのケアがなされていた。保湿剤については、19 名中 16 名が使用されており、残存歯の有無に関わらず、使用されている者と、そうでない者がいた。なお本研究は松本歯科大学倫理委員会(承認番号:257)に承認された。

2. 調査方法

1) 患者背景の調査

入院・入所記録より性別、年齢、寝たきり度(障害老人の日常生活自立度判定基準、厚労省 1991 年)を記録し、担当看護師より意識レベル(Japan Coma Scale:以下 JCS)、意思疎通の可否(開口指示に従命可能か)を確認した。

2) 口腔内検査

口腔内検査は口角鉤(アングルワイダー、YDM、東京)、ミラー、LED ライトを使用し、残存歯の有無、CPI、う蝕の有無、常時開口の有無、口腔乾燥度(柿木の臨床診断基準)を評価した。常時開口状態は野澤の調査²⁰⁾を参考に、口唇などに刺激を与えられたとき以外、常時 1 横指以上の開口がみられる者を常時開口と判定した。また、口蓋粘膜に膜状物質が認められた場合、ピンセットにて採取した。採取した膜状物質は 10% 中性緩衝ホル

マリン溶液で固定し、通法に従ってパラフィン切片を作製し、HE 染色を行い標本作製した。標本を顕微鏡にて観察し、ヘマトキシリンにて淡染された無構造物質と好酸性の重層扁平上皮由来の角質変性物⁵⁾が認められた場合のみ、剥離上皮膜有りと判定した。

3. サンプル採取

生理食塩水(生食注シリンジ 20ml オーツカ, 大塚製薬工場, 徳島)で湿らせた Forensic Swab(Forensick Abstruchtupfer XL・Forensic Swab XL, Sarstedt AG&Co., Nümbrecht, Germany)を用いて, 口蓋中央部を20回擦過し, サンプル採取を施行した。その後, 擦過したスワブを DNA 保存液 (DNA/RNA Shield, Zymo Research, Irvine, California, USA) の入った 15ml チューブ (VIOLAMO 遠沈管, アズワン, 大阪) に入れ, 攪拌機で約 1 分間攪拌し, 攪拌した混濁液を冷蔵保存した。

4. 細菌の DNA/RNA 抽出・16S rRNA メタゲノム解析による細菌叢の検索

DNA/RNA 抽出キット (MORA-EXTRACT, 極東製薬工場, 東京) を使用し, 付属の説明書に従い各種サンプルから細菌 DNA/RNA を抽出した。次に 16s rRNA 遺伝子の V3-V4 領域に特異的なプライマー: 341F (5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNCCTACGGGNGGCWGCAG-3') と 806R (5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNGACTACHVGGGTATCTAATCC-3') を用いて, ポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase Chain Reaction) による増幅を行った。増幅されたサンプルを口腔常在微生物叢解析センター(香川)にて, Miseq (Illumina, San Diego, CA, USA) を用いた次世代シーケンス解析を行った。得られた配列データはリード処理を行い, 400 塩基より短い配列は解析対象から除外した。塩基類似度 97% でカットオフし, UCLUST アルゴリズムで OTU (the operational taxonomic units) をソートした。各 OTU は Human Oral Microbiome Database (HOMD; version 14.51) (<http://www.homd.org/>) に照合し, 細菌種を同定した。

5. 分析方法

患者特性と剥離上皮膜の関連は、Fisher の直接確率検定、 χ^2 検定あるいは対応のない t 検定を用いた。経管栄養者の口蓋粘膜におけるサンプル間の細菌叢の類似性は、Weighted UniFrac 距離²¹⁾を用いて検討し、主座標分析にて細菌叢の類似度関係を視覚化した。細菌叢に関連する因子を明らかにするために、主座標分析の寄与率が最も高い第 1 主座標の得点を目的変数に、「性別」、「年齢」、「寝たきり度」、「意識レベル(JCS)」、「意思疎通の可否」、「調査場所」、「残存歯の有無」、「CPI」、「う蝕の有無」、「保湿剤使用の有無」、「常時開口の有無」、「口腔乾燥度」、「剥離上皮膜の有無」の全 13 項目を説明変数として相関比を算出した。Mann-Whitney の U 検定を用いて、剥離上皮膜の有無における、 α 多様性を表す Shannon 指数と Simpson 指数の比較と細菌種の検出率の比較を行った。また酸素要求性別の細菌種の検出率も比較検討した。なお、Mann-Whitney の U 検定は EZR (ver.1.4, 自治医科大学, 埼玉)²²⁾を用い、有意水準は 0.05 とした。主座標分析は菌叢解析ソフト Qiime (Quantitative Insights into Microbial Ecology, <http://qiime.org/>)²³⁾を用いて、相関比は Excel 統計解析 (ver.8.4, アイスタット, 東京)を使用した。

結果

1. 患者特性と剥離上皮膜

男性 13 名, 女性 6 名, 平均年齢は 81.0 ± 6.4 歳であった。寝たきり度は全員が C ランクで, JCS では I が 8 名, II が 11 名であった。意思疎通は可能が 7 名, 不可能が 12 名であった。保湿剤使用は 16 名であった。口腔内所見については, 無歯顎者が 5 名いた。CPI では 1 が 2 名, 2 が 7 名, 3 が 1 名, 4 が 4 名であった。う蝕ありは 13 名, う蝕無しが 1 名, 常時開口状態のものは 9 名であった。口腔乾燥度は, 1 度が 3 名, 2 度が 4 名, 3 度が 12 名であった。剥離上皮膜を有する者は 11 名であった。剥離上皮膜の有無で有意な関連がみられたのは「常時開口の有無」と「口腔乾燥度」であった(表 2)。

2. 細菌叢に関連する因子

主座標分析による第一主座標の付与得点から各項目との相関比を求めた結果、有意な相関比が得られたのは、「剥離上皮膜の有無」($r=0.3480$, $p=0.0078$), 「口腔乾燥度」($r=0.3463$, $p=0.03333$), 「性別」($r=0.3236$, $p=0.0110$), 「常時開口の有無」($r=0.2825$, $p=0.0192$)であった(表3)。得られた項目より相関行列を作成し、独立性を確認したところ、「剥離上皮膜の有無」と「性別」が独立した因子として抽出された(表4)。

3. 各サンプルにおける細菌叢の類似性

主座標分析により得られた第1軸と第2軸の累積寄与率は、56.79%であった。剥離上皮膜の有無にてサンプルを分別し散布図を作成した(図1)。剥離上皮膜あり群は全体的に広く分布し、剥離上皮膜なし群は原点から第2象限に集積していた。

4. α 多様性の比較

剥離上皮膜の有無別に個々の細菌叢の多様性(α 多様性)を比較した結果、Shannon 指数は、剥離上皮膜あり群が平均 3.4 ± 0.9 , 剥離上皮膜なし群は平均 3.3 ± 0.7 で有意差が認められなかった。Simpson 指数は、剥離上皮膜あり群が平均 0.78 ± 0.14 , 剥離上皮膜なし群は平均 0.79 ± 0.09 であり、有意差はなかった(表5)。

5. 検出された細菌種

検出された全細菌は260菌種であった。平均0.1%以上検出された細菌種は60菌種であり、そのうち *Neisseria* 属は29.23%, *Streptococcus* 属が19.14%, *Rothia* 属が17.29%と、上位3菌属で全体の約66%を占める結果となった。

すべての細菌種の中で、最も多く検出されたのは、*Neisseria flavescens*(平均検出率18.20%)であった。以下、*Rothia mucilaginosa*(平均検出率17.28%), *Streptococcus sp.oral taxon 058*(平均検出率10.09%), *Streptococcus agalactiae*(平均検出率8.86%), *Neisseria sp.oral taxon 020*(平均検出率5.94%)の順で5%以上の検出率であった。

*Streptococcus mutans*と*Streptococcus sobrinus*は検出されなかった。*Lactobacillus spp.*は*Lactobacillus crispatus*(平均検出率 2.00%)と*Lactobacillus gasseri*(平均検出率 0.0043%),*Lactobacillus iners*(平均検出率 0.00030%)が検出された。*Porphyromonas gingivalis*(平均検出率 0.11%)は検出された。*Pseudomonas aeruginosa*(平均検出率 1.71%)と*Haemophilus influenzae*(平均検出率 0.03%),*Staphylococcus aureus*(平均検出率 0.0035%)は検出された。

0.1%以上の検出率が得られた細菌を剥離上皮膜の有無において比較検討した結果,*Streptococcus agalactiae*,*Fusobacterium nucleatum subsp. vincentii*,*Haemophilus parainfluenzae*,*Dialister micraerophilus*が剥離上皮膜あり群に有意に多く検出された(表6)。

6. 酸素要求別の細菌種の検出率

酸素要求性について判明した細菌種のみで、剥離上皮膜の有無における酸素要求性別細菌検出率を比較したところ、好気性菌、通性嫌気性菌、偏性嫌気性菌のいずれにおいても有意差はなかった(図2)。なお、酸素要求性が不明であった菌種は26菌種であり、占有率は1.84%であった。

考察

口腔内の常在細菌叢は、宿主とのバランスのとれた状態で存在している²⁴⁾が、経管栄養者の口腔内は、口腔乾燥²⁵⁾や唾液pHの上昇²⁶⁾が認められ、口腔内環境の変化により、口腔常在細菌叢の変化が考えられる。経口摂取者では、口腔乾燥が口腔内細菌叢を変化させることが報告されており²⁷⁾、本研究でも経管栄養の口蓋細菌叢に関連する項目として「口腔乾燥度」、「剥離上皮膜の有無」、「性別」、「常時開口の有無」が挙げられた。しかしながら、独立した項目かつ、最も相関比が高かったのは「剥離上皮膜」であった。

経管栄養の要介護高齢者の口腔乾燥は経口摂取者の11.2倍のオッズ比であるとされ²⁵⁾、口腔乾燥をきたしやすい。さらに意識障害があり、常時開口状態の者や舌が動かない者は、舌を介した口腔粘膜への唾液付着がなく、口腔粘膜が乾燥し、17.5~42.5%の者に剥離上皮膜が観察される^{2・4)}。経管栄養

者全員に剥離上皮膜が形成されるのではなく、著しい口腔粘膜の乾燥状態⁵⁾である口腔内環境に剥離上皮膜が形成される。つまり、剥離上皮膜が形成される特殊な口腔内環境こそが口蓋細菌叢に関連すると考えられる。主座標分析より得られた散布図によると、剥離上皮膜なし群の細菌叢は集積し、あり群は広く分布しているが、一部、なし群と重なっていた。これは、剥離上皮膜なし群の細菌叢が、口腔乾燥の悪化に伴い、移行的に剥離上皮膜あり群の細菌叢に変化していくと捉えることができた。細菌叢の多様性を示す Shannon 指数は稀な菌種が多く含まれるか否かを示し、Simpson 指数は優占種の違いを示すものだが、いずれも有意差がなかった。また酸素要求性別の細菌検出率についても剥離上皮膜の有無で有意差がなかった。つまり相関比、散布図、Shannon 指数 Simpson 指数、酸素要求性別の細菌検出率の結果から、細菌叢への影響として、剥離上皮膜の存在は細菌叢全体を変化させるのではなく、一部細菌の比率を変化させるものと判断できた。細菌叢に関連する因子として、剥離上皮膜以外に抽出されたのは「性別」であった。しかしながら、性別が口蓋細菌叢に関連する因子として抽出された理由は不明であり、さらなる検討が必要である。

0.1%以上の検出率が得られた細菌種のうち、剥離上皮膜あり群に有意に多く検出された細菌種は、4 菌種であった。そのうち *Streptococcus agalactiae* (Group B Streptococcus: 以下 GBS) と *Haemophilus parainfluenzae* の 2 菌種は肺炎起炎菌として報告されている。

GBS は、口蓋細菌叢の平均 14.22%を占め、剥離上皮膜あり群では検出されたなかで 2 番目に多く、剥離上皮膜なし群と比べ約 10 倍もの差が合った。GBS は経口摂取者の口腔内で認められるのは稀であるが、経管栄養者の口腔内で多く認められると報告されている^{15,28)}。近年、GBS による感染症は高齢者に増加し²⁹⁾、そのうち GBS 肺炎は衰弱高齢者にほぼ独占的に起こり²⁹⁾、菌血症や経気管的誤嚥によって発症するとされている³⁰⁾。GBS 肺炎を検討した報告例では 7 件中 5 件は経管栄養者であったと報告³¹⁾もあり、経管栄養者における GBS を起炎菌とした誤嚥性肺炎が危惧され、GBS 感染症は基礎疾患を有する高齢者の重要な問題となる³²⁾。

Haemophilus parainfluenzae は、寝たきり高齢者のプラークから有意に

多く検出され³³⁾,誤嚥リスクのある高齢者³⁴⁾や肺炎患者³³⁾から多く検出される傾向がある. 本調査結果では,剥離上皮膜形成者に有意に多く検出されたが,平均検出率が0.58%であり,重要性は低いと考えられる.しかしながら病的意義があるので,必ずしも無視はできない.

剥離上皮膜は発熱と関連¹⁰⁾するため,剥離上皮膜形成者の発熱にGBS,*H. parainflueeazae*の関与が疑われる.口蓋のGBSと*H. parainflueeazae*の感染経路に,剥離上皮膜除去による出血⁷⁾部位からの血行感染や,剥離上皮膜の咽頭・喉頭・気管への落下^{8,9)}による感染が考えられる.また,経管栄養者の口蓋,舌背,咽頭の検出率上位菌種は同じであり,細菌叢も多様性に差がなく,類似している¹⁵⁾ので,口蓋細菌のGBSなどが容易に咽頭に移行し,気管への吸引による呼吸器感染が考えられる.また日和見菌である*N. flavescens*³⁵⁾の平均検出率は,剥離上皮膜群で24.52%,剥離上皮膜なし群の2.5倍であり,肺炎のリスクが高いと言える.さらに誤嚥性肺炎のリスクファクターとして報告されている*Streptococcus*属^{36,37)}が多いため,剥離上皮膜を有する経管栄養者は,いっそう健康への悪影響が懸念される.

Fusobacterium nucleatum subsp. Vincentii(剥離上皮膜あり群 平均検出率3.30%,なし群1.18%)と*Dialister micraerophilus*(剥離上皮膜あり群 平均検出率0.18%,なし群 平均0.03%)が剥離上皮膜群で有意に多く検出された.*Fusobacterium nucleatum subsp. vincentii*は,歯周病ポケット内で検出され,歯周病との関連性が報告されている³⁸⁾.*Dialister micraerophilus*は骨や血液から分離され,比較的新しく発見された菌であり³⁹⁾,ヒトに対する病原性は未だ不明である⁴⁰⁾が,今回,ヒト口腔内からも認められた.以上の細菌種は,剥離上皮膜が形成されるような重度口腔乾燥した口内環境が検出率を高めるので,口腔乾燥を防止することが有用である.

口腔乾燥を防止し,剥離上皮膜形成を予防するには,口腔粘膜の清拭と保湿剤の塗布が有効である^{41,42)}.頻回な保湿剤の使用と粘膜清拭は,剥離上皮膜の形成予防になる^{41,42)}.重度口腔乾燥者への持続的な保湿剤の使用は,口腔乾燥のない者と同様の口腔細菌叢に近づくとされ⁴³⁾,保湿剤塗布は,今回認められた細菌種減少の一助となる可能性があり,剥離上皮膜形

成予防も含めた清拭と保湿剤塗布の口腔粘膜ケアが重要であることが示唆された。

本研究では、経管栄養者におけるう蝕および歯周炎のリスクも検討した。経管栄養者の細菌叢は口蓋・舌背・咽頭において類似しており¹⁵⁾、また舌背と唾液の細菌叢は相同している⁴⁴⁾ため、検出された口蓋粘膜細菌が唾液中にも同率に存在する可能性が考えられる。

今回、う蝕原因菌の *S. mutans* と *S. sobrinus* は検出されなかった。う蝕の進展に関与する *Lactobacillus spp.* は、*Lactobacillus crispatus* (平均検出率 2.00%)、*Lactobacillus gasseri* (平均検出率 0.0043%)、*Lactobacillus iners* (平均検出率 0.00030%) が検出された。また、う蝕関連菌^{45,46)} の *Streptococcus anginosus* (平均検出率 0.00026%)、*Streptococcus sanguinis* (平均検出率 0.00070%)、*Actinomyces naeslundii* (平均検出率 0.22%) が検出された。う蝕原因菌である *S. mutans*、*S. sobrinus* がう蝕を発生させ、関連菌はう蝕の進行に関与するが、原因菌が検出されなかった。以上より、経管栄養者は細菌学的にも新たなう蝕を発生しにくい環境であることが示唆された。

経管栄養者では、歯周病関連菌として前述の *F. nucleatum subsp. Vincentii* 以外に病原性が高いレッドコンプレックスの *Porphyromonas gingivalis* (平均検出率 0.11%) のほか、オレンジコンプレックスである *Campylobacter gracilis* (平均検出率 0.033%)、*Campylobacter showae* (平均検出率 0.25%)、*Eubacterium nodatum* (平均検出率 0.085%)、*Fusobacterium nucleatum subsp. polymorphum* (平均検出率 0.15%)、*Prevotella intermedia* (平均検出率 0.00074%)、*Prevotella nigrescens* (平均検出率 0.0021%)、*Streptococcus constellatus* (平均検出率 0.0012%) が検出された。経管栄養者では、歯周病のリスクが少なからずあると言える。

本研究の限界として、調査の同意を得る難しさと次世代シーケンス・メタゲノム解析の費用の問題があり、結果として調査対象者の少なさが挙げられる。調査対象者の増加により差異が明確になる細菌種があると思われる。しかしながら、対象者が少ないにも関わらず、GBS や *H. parainfluenzae* といった高

齢者の健康を損なう可能性のある細菌種に有意差が認められたのは、要介護高齢者の健康の維持において口腔の重要性を示唆するものであった。また本研究は、経管栄養者における口蓋細菌叢の調査であるため、う蝕、歯周炎の詳細な検討には歯肉縁上・縁下プラーク、唾液中および歯周ポケットの細菌について検索する必要がある。さらに剥離上皮膜の除去による口蓋細菌叢への経時的な変化は不明である。今後、さらに対象者を増やし、剥離上皮膜の除去がもたらす細菌叢への経時的な影響や歯肉縁上・縁下プラーク、唾液中および歯周ポケットの細菌について検討することが望まれる。

結論

本研究にて、経管栄養者の口蓋は *Neisseria* 属, *Streptococcus* 属, *Rothia* 属で多く占められることが分かった。また、経管栄養の要介護高齢者の口蓋細菌叢に最も関連するものは、剥離上皮膜であり、剥離上皮膜が形成される異常口腔乾燥状態が、GBS や *H. parainfluenzae* といった肺炎と関連する細菌種を有意に多く検出させることが明らかとなった。以上より、剥離上皮膜形成は要介護高齢者の健康を損なう可能性が考えられ、剥離上皮膜の形成予防や粘膜清拭が重要であることが示唆された。

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 (2015) 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.
- 2) Yuka Kawase, Tadashi Ogasawara, Soichiro Kawase, Nina Wakimoto, Koichiro Matsuo, Fa-Chih Shen, Hiromasa Hasegawa, Yasuaki Kakinoki (2014) Factors affecting the formation of membranous substances in the palates of elderly persons requiring nursing care. *Gerodontology*. 31: 184–93.
- 3) 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（2014）要介護高齢者における剥離上皮の形成要因－舌背，齒，頬粘膜－. 老年歯誌. 29(1): 11-20.

4) 篠塚 功一，小笠原 正，岩崎 仁史，磯野 員達，轟 かほる，岡田 芳幸，薮島 弘之，沈 發智，嶋田 勝光，落合 隆永，長谷川 博雅，柿木 保明（2016）経管栄養の要介護者にみられる咽頭付着物の形成要因. 障歯誌. 37: 22-7.

5) Fa-Chih Shen, Tadashi Ogasawara, Koichi Shinotsuka, Kohta Miyahara, Kazushige Isono, Noriyasu Mochiduki, Kouhei Matsumura, Katsumitsu Shimada, Takanaga Ochiai, Yasuaki Kakinoki, Hiromasa Hasegawa (2019) Histopathological evaluation of oral membranous substance in bedridden elderly persons without oral intake in Japan. Gerodontology. 36: 63-70.

6) Kohta Miyahara, Tadashi Ogasawara, Hiromasa Hasegawa, Kohichi Shinotsuka, Katsumitsu Shimada, Takanaga Ochiai, Fa-Chih Shen, Yasuaki Kakinoki (2020) Pharyngeal Deposits Comprising Salivary Mucin in Tube-fed Elderly Patients: MUC2 and MUC7 Immunoreactivity. Dysphagia. <https://doi.org/10.1007/s00455-020-10202-2>.

7) 岩佐 康行. 意識障害者への口腔ケア（2005）老年歯誌. 19(4); 325-31.

8) Joseph A Prahlow, Tamara J Prahlow, Rex J Rakow, Nathan D Prahlow (2009) Case Study: Asphyxia Caused by Inspissated Oral and Nasopharyngeal Secretions. Am J Nurs. 109: 38-43.

9) 中城正夫. 口腔内粘膜残渣の誤嚥による気道閉塞の1例（2014）日気管食道会報 65: 485-8.

10) 朝比奈 滉直，小笠原 正，秋枝 俊江，宮原 康太，松村 康平，莊 司 舞，島田 茂，島田 裳彩，柿木 保明（2020）経管栄養の要介護高齢者の発熱と口腔内状態. 障歯誌. 41: 375-81

11) T.E. Finucane J.P. Bynum (1996) Use of tube feeding to prevent

- aspiration pneumonia. *Lancet*. 348: 1421-4.
- 12) S.E. Langmore, M.S. Terpenning, A. Schork, Y. Chen, J.T. Murray, D. Lopatin, W.J. Loesche (1998) Predictors of aspiration pneumonia: how important is dysphagia?. *Dysphagia*. 13: 69-81.
- 13) D.M. DiBardino, R.G. Wunderink (2015) Aspiration pneumonia: A review of modern trends. *Journal of Critical Care*. 30(1): 40-8.
- 14) Toru Takeshita, Masaki Yasui, Mikiko Tomioka, Yoshio Nakano, Yoshihiro Shimazaki, Yoshihisa Yamashita, (2011) Enteral tube feeding alters the oral indigenous microbiota in elderly adults. *Appl. Environ. Microbiol*. 77: 6739-45.
- 15) 秋枝 俊江, 小笠原 正, 朝比奈 滉直, 宮原 康太, 松村 康平, 莊司 舞, 島田 茂, 島田 紫彩, 谷口 誠, 吉田 明弘 (2020) 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. *障齒誌*. 41;287-98
- 16) Yasuaki Kakinoki, Tatsuji Nishihara, Masahiro Arita, Koji Shibuya, Masao Ishikawa (2004) Usefulness of new wetness tester for diagnosis of dry mouth in disabled patients. *Gerodontology*. 21(4): 229-31.
- 17) Anderson AD (1964) The use of the heart rate as a monitoring device in an ambulatory program. A progress report. *Arch Phys Med Rehabil*. 45: 140-6
- 18) 土肥 豊 (1976) 脳卒中リハビリテーションリスクとその対策. *Medicina*.13: 1068-9.
- 19) 公益社団法人日本リハビリテーション医学会 (2018) リハビリテーション医療における安全管理・推進のためのガイドライン第2版. 112-3, 診断と治療社. 東京.
- 20) 野澤 和子 (2013) 長期経管栄養高齢者の常時開口状態改善の取り組み : 口輪筋・頬筋のマッサージを試みて. *看護実践学会誌*. 25(1): 73-82.
- 21) Lozupone C, Knight R. UniFrac: a new phylogenetic method

- for comparing microbial communities (2005) *Appl Environ Microbiol.* 71(12): 8228–35.
- 22) Kanda Y (2013) Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* 48: 452-58.
- 23) J Gregory Caporaso, Justin Kuczynski, Jesse Stombaugh, Kyle Bittinger, Frederic D Bushman, Elizabeth K Costello, Noah Fierer, Antonio Gonzalez Peña, Julia K Goodrich, Jeffrey I Gordon, Gavin A Huttenhower, Scott T Kelley, Dan Knights, Jeremy E Koenig, Ruth E Ley, Catherine A Lozupone, Daniel McDonald, Brian D Muegge, Meg Pirrung, Jens Reeder, Joel R Sevinsky, Peter J Turnbaugh, William A Walters, Jeremy Widmann, Tanya Yatsunenko, Jesse Zaneveld, Rob Knight (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods.* 7(5): 335–6.
- 24) Dahlen G (2009) Bacterial infections of the oral mucosa. *Periodontol 2000.* 49: 13–38.
- 25) Tadashi Ogasawara, Nobuyuki Andou, Souitirou Kawase, Yuka Kawase, Koichiro Matsuo, Yosie Ozaki, Yasuaki Kakinoki (2008) Potential factors responsible for dryness of the dorsum of the tongue in elderly requiring care. *Gerodontology.* 25: 217-21.
- 26) 内藤 浩美, 大橋 一之, 神部 芳則, 草間 幹夫 (2003) 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, 咽頭細菌について—. *口科誌.* 52(4): 181-7.
- 27) Yoshiko Hayashi, Toru Saito, Tomoko Ohshima, Yoichi Nakagawa, Nobuko Maeda (2015) Alterations of the oral microbiota and oral clinical findings in dry mouth. *Journal of Oral Biosciences.* 57(4): 171-4.
- 28) 松浦 徹, 鈴木 幹三, 山腰 雅宏, 山本 俊信, 山本 俊幸, 吉友和夫, 利根川 賢, 有我 憲仁, 小田原 史知 (1997) 高齢者経鼻胃管栄

養施行例の口腔内および胃内細菌叢に関する検討. 感染症学雑誌. 71(5): 397-404.

29) Morven S. Edwards, Carol J. Baker (2005) Group B Streptococcal Infections in Elderly Adults. *Clinical Infectious Diseases*. 41: 839-47.

30) J.W. MYERS, S.L. BERK (2001) *Community-Acquired Pneumonia*. 1st ed. 743-749, Springer, Boston, MA.

31) Verghese A, Berk SL, Boelen LJ, Smith JK (1982) Group B streptococcal pneumonia in the elderly. *Arch Intern Med*. 142: 1642-5.

32) M.M. Farley, R.C. Harvey, T. Stull, J.D. Smith, A. Schuchat, J. D. Wenger, D.S. Stephens (1993) A population-based assessment of invasive disease due to group B streptococcus in nonpregnant adults. *N Engl J Med*. 328: 1807-11.

33) A. Tada, T. Watanabe, H. Yokoe, H. Tanzawa (2002) Oral bacteria influenced by the functional status of the elderly people and the type and quality of facilities for the bedridden. *Journal of Applied Microbiology*. 93, 487-91.

34) Joanne K Taylor, Gillian B Fleming, Aran Singanayagam, Adam T Hill, James D Chalmers (2013) Risk Factors for Aspiration in Community-acquired Pneumonia: Analysis of a Hospitalized UK Cohort. *The American Journal of Medicine*. 126(11), 995-1001.

35) Maria V. Humbert, Myron C (2020) Atypical, Yet Not Infrequent, Infections with *Neisseria* Species. *Pathogens*. 9(1), 10.

36) Shingo Noguchi, Hiroshi Mukae, Toshinori Kawanami, Kei Yamasaki, Kazumasa Fukuda, Kentarou Akata, Hiroshi Ishimoto, Hatsumi Taniguchi, Kazuhiro Yatera (2015) Bacteriological assessment of healthcare-associated pneumonia using a clone library analysis. *PLoS One*. 10: e0124697.

37) Kentaro Akata, Kazuhiro Yatera, Kei Yamasaki, Toshinori

Kawanami, Keisuke Naito, Shingo Noguchi, Kazumasa Fukuda, Hiroshi Ishimoto, Hatsumi Taniguchi, Hiroshi Mukae (2016) 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.* 16: 79.

38) Soon-Nang Park¹, Yun Kyong Lim, Ja Young Shin, Hanseong Roh, Joong-Ki Kook (2018) Complete genome sequence of *Fusobacterium vincentii* KCOM 2931 isolated from a human periodontitis lesion. *Korean J. Microbiol.* 54(1): 74-6

39) Estelle Jumas-Bilak, H el ene Jean-Pierre, Jean-Philippe Carlier, Corinne Teyssier, Kathryn Bernard, Bernard Gay, Josiane Campos, Florent Morio , H el ene Marchandin (2005) *Dialister microaerophilus* sp. nov. and *Dialister propionicifaciens* sp. nov., isolated from human clinical samples. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 55, 2471-8.

40) F. Morio, H. Jean-Pierre, L. Dubreuil, E. Jumas-Bilak, L. Calvet, G. Mercier, R. Devine, H. Marchandin. (2007) Antimicrobial Susceptibilities and Clinical Sources of *Dialister* Species. *Antimicrob. Agents Chemother.* Dec. 4498-501.

41) 岩崎 仁史, 小笠原 正, 篠塚 功一, 轟 かほる, 小澤 章, 岡田 芳幸, 靛島 弘之, 沈 發智, 落合 隆永, 長谷川 博雅, 柿木 保明 (2016) 口腔の剥離上皮膜に対する保湿剤の予防効果の検討. *日摂食嚥下リハ会誌.* 20(2): 86-93.

42) 松村 康平, 小笠原 正, 宮原 康太, 莊司 舞, 朝比奈 滉直, 秋枝 俊江, 島田 茂, 嶋田 勝光, 長谷川 博雅, 柿木 保明 (2019) 経管栄養の要介護高齢者における口蓋の剥離上皮膜の形成過程. *障齒誌.* 40(4): 485-92.

43) 田端 宏充, 川田 賢介, 小川 貴央, 坂本 光央, 吉田 智, 鈴木 靖志, 植田 耕一郎, 辨野 義己, 石川 好美 (2014) 保湿スプレー療法

による口腔乾燥症患者の口腔湿潤度および舌背部細菌叢への影響. 日摂食嚥下リハ会誌. 18(1): 44-52.

44) Nicola Segata, Susan Kinder Haake, Peter Mannon, Katherine P Lemon, Levi Waldron, Dirk Gevers, Curtis Huttenhower, Jacques Izard (2012) Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol.* 13: R42

45) TM Karpiński, AK Szkaradkiewicz (2013) Microbiology of dental caries. *J Biol Earth Sci.* (1): M21-4.

46) RR Russell (2009) changing concepts in caries microbiology *American journal of dentistry.* 22(5): 304-10.

表 1 調査対象者除外基準

脈拍	: 100 bpm 以上
血圧	: 180/110 mmHg 以上
SpO2	: 90% 未満
期外収縮	: 5回/分 以上
体温	: 37.0℃以上
肺炎や感冒症状のあるもの	
咳のある者	
拒否行動が強い者	

表 2 患者特性

	剥離上皮膜	あり	なし	計	P値	
性別	男	6	7	13	0.177	
	女	5	1	6		
年齢	平均年齢	81.1±7.3	80.9±5.5	81.0±6.4	0.945	
	65歳以上	1	0	1	0.833	
	70歳以上	3	4	7		
	80歳以上	6	3	9		
	90歳以上	1	1	2		
寝たきり度	C Rank	11	8	19	-	
意識レベル(JCS)	I	4	4	8	0.658	
	II	7	4	11		
意思疎通	可	3	4	7	0.377	
	不可	8	4	12		
調査場所	山梨	A	3	0	3	0.0857
		B	1	1	2	
	沖縄	C	4	7	11	
		D	3	0	3	
保湿剤の使用	あり	8	8	16	0.228	
	なし	3	0	3		
残存歯の有無	無歯顎	2	3	5	0.603	
	あり	9	5	14		
CPI	無歯顎	2	3	5	0.944	
	1	1	1	2		
	2	4	3	7		
	3	1	0	1		
	4	3	1	4		
う蝕	無歯顎	2	3	5	0.773	
	あり	8	5	13		
	なし	1	0	1		
常時開口	あり	2	7	9	0.0198	
	なし	9	1	10		
口腔乾燥	Class I	0	3	3	0.000159	
	Class II	0	4	4		
	Class III	11	1	12		

T検定：平均年齢

Fisherの直接確率計算：性別，意識レベル，意思疎通，残存歯の有無，保湿剤の使用，常時開口

χ²検定：年齢，調査場所，CPI，う蝕，口腔乾燥

表3 口蓋細菌叢と患者特性との相関比

要因	相関比	P値
剥離上皮膜	0.3480	0.0078
口腔乾燥	0.3463	0.0333
性別	0.3236	0.0110
常時開口	0.2825	0.0192
CPI	0.2352	0.4050
う蝕の有無	0.1967	0.1734
場所	0.1634	0.4299
年齢	0.1464	0.4842
保湿剤の使用有無	0.1275	0.1334
残存歯の有無	0.1250	0.1376
JCS	0.1013	0.1841
意思疎通の可否	0.0395	0.4147
寝たきり度	-	-

表4 口蓋細菌叢の関連項目による相関行列

相関比	0.3480*	0.3463*	0.3236*	0.2825*
	剥離上皮膜	口腔乾燥	性別	常時開口
剥離上皮膜		0.000159	0.177	0.0198
口腔乾燥			0.295	0.0031
性別				0.00548
常時開口				

表 5 α 多様性の比較

	剥離上皮膜		P値
	あり(中央値)	なし(中央値)	
Shannon 指数	3.4±0.9 (3.51)	3.3±0.7 (3.27)	0.778
Simpson 指数	0.78±0.14 (0.830)	0.79±0.09 (0.815)	0.649

Mann-Whitney U test

表 6-1 各細菌の検出率(検出率 0.5%以上)

	細菌検出率 (%)			
	総平均検出率	剥離上皮膜あり	剥離上皮膜なし	P値
<i>Neisseria flavescens</i>	18.20	24.52±20.92	9.52±8.05	0.0754
<i>Rothia mucilaginosa</i>	17.29	12.45±8.43	23.95±14.98	0.0754
<i>Streptococcus sp.oral taxon 058</i>	10.09	11.58±8.01	8.04±7.30	0.272
<i>Streptococcus agalactiae</i>	8.86	14.22±15.88	1.50±2.18	0.0091
<i>Neisseria sp.oral taxon 020</i>	5.94	1.20±1.71	12.46±11.51	0.126
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	3.93	2.32±2.90	6.14±11.61	0.778
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	3.39	0.04±0.09	8.01±21.91	0.121
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. vincentii</i>	2.40	3.30±3.85	1.18±2.76	0.0259
<i>Aggregatibacter sp. Oral taxon 512</i>	2.36	3.37±5.14	0.96±1.95	0.316
<i>Lactobacillus crispatus</i>	2.00	3.46±11.47	0.00±0.01	0.452
<i>Neisseria elongate</i>	2.00	2.15±6.30	1.79±5.04	0.103
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.71	1.30±3.70	2.28±4.26	0.472
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1.50	1.99±5.76	0.82±2.26	0.893
<i>Neisseria bacilliformis</i>	1.30	0.95±2.59	1.79±3.31	0.435
<i>Neisseria mucosa</i>	1.21	1.18±1.50	1.25±1.85	0.901
<i>Porphyromonas pasteri</i>	1.13	1.35±1.53	0.82±2.21	0.0753
<i>Delftia acidovorans</i>	1.07	0.09±0.09	2.42±3.89	0.481
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	0.90	0.62±1.13	1.29±2.51	1
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	0.84	0.46±0.98	1.36±1.64	0.298
<i>Prevotella nanceiensis</i>	0.83	1.18±2.14	0.35±0.78	0.166
<i>GN02 [G-2] sp. oral taxon 873</i>	0.71	0.58±0.94	0.88±1.35	0.767
<i>Neisseria pharyngis</i>	0.58	0.09±0.27	1.26±2.55	0.963

Mann-Whitney U test

表 6-2 各細菌の検出率（検出率 0.1% 以上）

	細菌検出率 (%)			P値
	総平均検出率	剥離上皮膜あり	剥離上皮膜なし	
<i>Ottowia sp. oral taxon 894</i>	0.45	0.31 ± 0.41	0.64 ± 1.23	0.421
<i>Ralstonia pickettii</i>	0.45	0.04 ± 0.08	1.00 ± 1.57	0.251
<i>Eikenella corrodens</i>	0.44	0.39 ± 0.46	0.51 ± 0.41	0.455
<i>Propionibacterium acnes</i>	0.41	0.56 ± 1.73	0.20 ± 0.30	0.867
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	0.37	0.09 ± 0.19	0.76 ± 1.69	0.18
<i>TM7 [G-1] sp. oral taxon 952</i>	0.37	0.16 ± 0.27	0.67 ± 1.06	0.18
<i>Peptostreptococcus stomatis</i>	0.37	0.26 ± 0.47	0.52 ± 0.61	0.362
<i>Fastidiosipila sanguinis</i>	0.36	0.62 ± 1.35	0.00 ± 0.01	0.0564
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	0.34	0.58 ± 0.92	0.01 ± 0.02	0.0243
<i>Haemophilus sp. oral taxon 036</i>	0.34	0.53 ± 1.49	0.07 ± 0.19	0.118
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	0.32	0.55 ± 1.68	0.01 ± 0.02	0.954
<i>Anaerococcus lactolyticus</i>	0.30	0.51 ± 1.01	0.00 ± 0.01	0.121
<i>Campylobacter showae</i>	0.25	0.19 ± 0.17	0.32 ± 0.49	0.772
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	0.24	0.29 ± 0.43	0.18 ± 0.34	0.703
<i>Veillonella parvula</i>	0.23	0.37 ± 1.18	0.04 ± 0.09	0.474
<i>Actinomyces naeslundii</i>	0.22	0.17 ± 0.36	0.29 ± 0.53	0.607
<i>Prevotella nigrescens</i>	0.21	0.02 ± 0.06	0.47 ± 1.34	0.897
<i>Ruminococcaceae [G-1] sp. oral taxon 075</i>	0.19	0.02 ± 0.04	0.43 ± 1.22	0.897
<i>Lautropia mirabilis</i>	0.19	0.03 ± 0.05	0.40 ± 0.68	0.567
<i>Streptococcus cristatus</i>	0.19	0.22 ± 0.54	0.14 ± 0.25	0.298
<i>Alloprevotella sp. oral taxon 914</i>	0.16	0.21 ± 0.47	0.11 ± 0.28	0.582
<i>Gemella sp. oral taxon 928</i>	0.16	0.08 ± 0.13	0.27 ± 0.77	0.152
<i>Gemella morbillorum</i>	0.16	0.24 ± 0.40	0.05 ± 0.09	0.145
<i>[G-3] sp. oral taxon 929</i>	0.16	0.28 ± 0.92	0.00 ± 0.00	0.456
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	0.16	0.27 ± 0.50	0.01 ± 0.03	0.201
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. polymorphum</i>	0.15	0.23 ± 0.33	0.04 ± 0.10	0.117
<i>Peptostreptococcaceae[XI] [G-9] [Eubacterium] brachy</i>	0.15	0.03 ± 0.05	0.31 ± 0.45	0.036
<i>Prevotella melaninogenica</i>	0.14	0.07 ± 0.10	0.24 ± 0.68	0.152
<i>Alloprevotella sp. oral taxon 913</i>	0.14	0.06 ± 0.12	0.25 ± 0.45	0.458
<i>Aggregatibacter paraphrophilus</i>	0.14	0.24 ± 0.64	0.01 ± 0.02	0.31
<i>Prevotella sp. oral taxon 304</i>	0.14	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.93	0.286
<i>Alloscardovia omnicolens</i>	0.13	0.22 ± 0.69	0.00 ± 0.00	0.0728
<i>Lingnae [NVP]</i>	0.12	0.09 ± 0.18	0.15 ± 0.42	0.797
<i>Dialister microaerophilus</i>	0.11	0.18 ± 0.28	0.03 ± 0.08	0.0321
<i>Bacteroidaceae [G-1] sp. oral taxon 272</i>	0.11	0.00 ± 0.00	0.26 ± 0.73	0.33
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	0.11	0.17 ± 0.46	0.03 ± 0.09	0.582
<i>Actinobaculum sp. oral taxon 848</i>	0.11	0.00 ± 0.00	0.26 ± 0.74	0.286
<i>Sphingomonas echinoides</i>	0.11	0.09 ± 0.29	0.13 ± 0.23	0.0987

Mann-Whitney U test

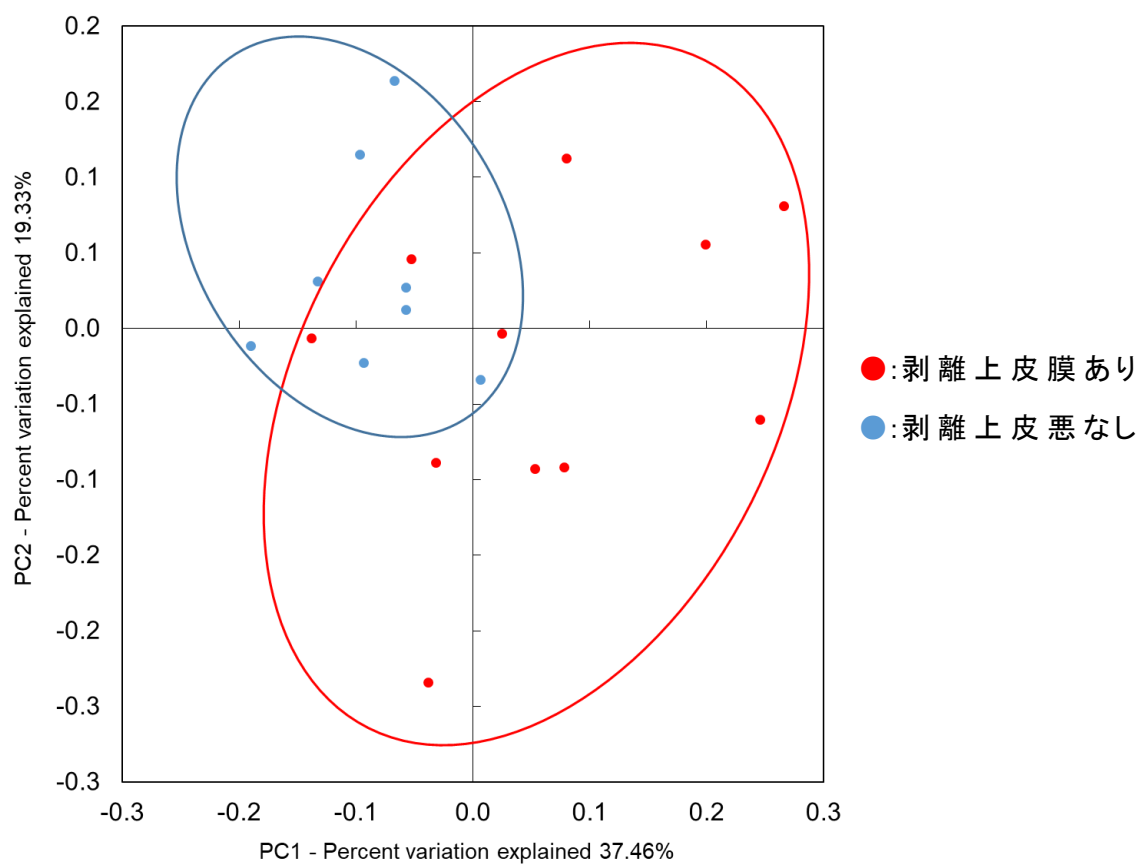


図1 主座標分析による各サンプルの細菌叢の類似性

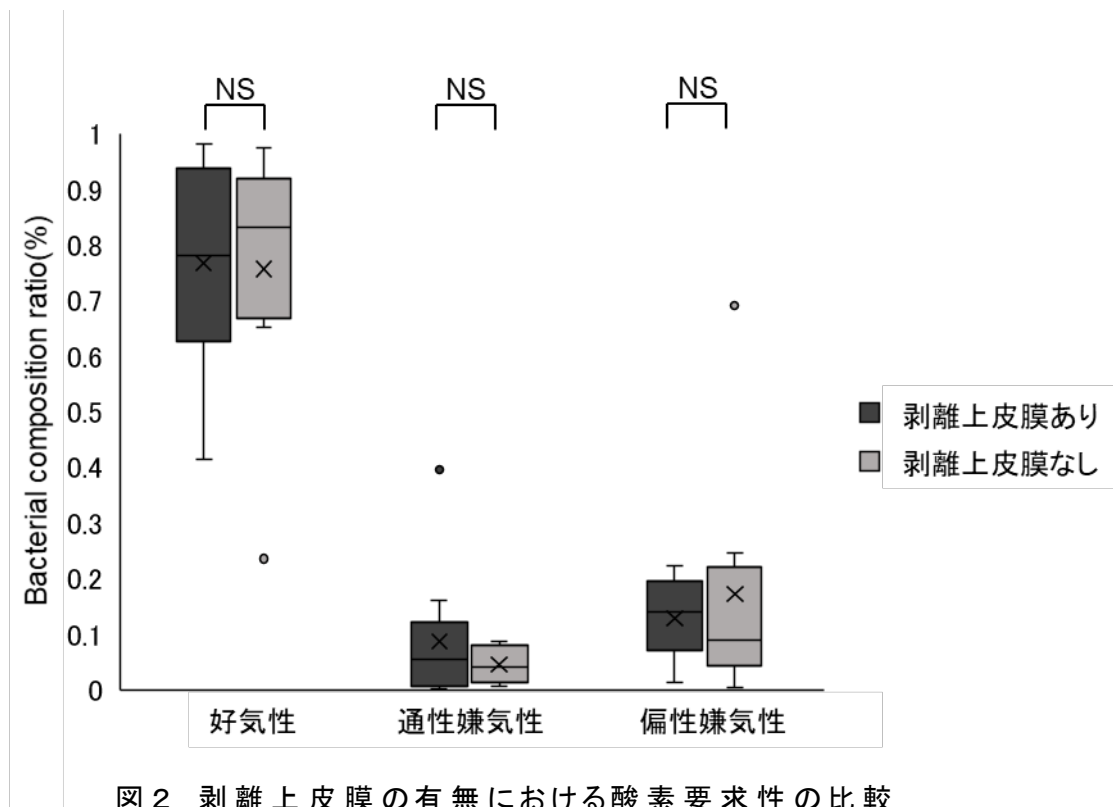


図2 剥離上皮膜の有無における酸素要求性の比較

表図の説明

表1 調査対象者除外基準

Anderson, 土肥の基準および, 日本リハビリテーション医学会安全管理のためのガイドラインを参考にし, 基準を設定したうえで, 予備力の少ない要介護高齢者であるため, 基準値をより厳しく設定した.

表2 患者特性

剥離上皮膜と患者特性との関連の検討として, 平均年齢は T 検定, 性別, 意識レベル, 意思疎通, 残存歯の有無, 保湿剤の使用, 常時開口状態の有無は Fisher の直接確率計算, 年齢, 調査場所, CPI, う蝕の有無, 口腔乾燥は χ^2 検定を行った. 口腔乾燥と常時開口に剥離上皮膜との関連を認めた.

表3 口蓋細菌叢と患者特性との相関比

細菌叢に関連する因子を明らかにするために, 主座標分析の寄与率が最も高い第 1 主座標の得点を目的変数に, 「性別」, 「年齢」, 「寝たきり度」, 「意識レベル(JCS)」, 「意思疎通の可否」, 「調査場所」, 「残存歯の有無」, 「CPI」, 「う蝕の有無」, 「保湿剤使用の有無」, 「常時開口の有無」, 「口腔乾燥の程度」, 「剥離上皮膜の有無」の全 13 項目を説明変数として相関比を算出した. 有意な相関比が得られたのは, 「剥離上皮膜の有無」, 「口腔乾燥の程度」, 「性別」, 「常時開口の有無」であった.

表4 口蓋細菌叢の関連項目による相関行列

口蓋細菌叢と患者特性との間で, 有意な相関比を得ることができた項目を用いて, 各項目同士の関連性を χ^2 検定にて検討した. その結果, 「剥離上皮膜の有無」と「口腔乾燥の程度」, 「常時開口の有無」に, 「口腔乾燥の程度」と「常時開口の有無」, 「性別」と「常時開口の有無」に関連がみられた. 独立したのは「剥離上皮膜の有無」と「性別」であった.

表5 α 多様性の比較

細菌種の多様性を示す α 多様性の比較を Mann-Whitney の U 検定を用いて行った。Shannon 指数は、数字が大きいくほど種が多いことを示し、Simpson 指数は数字が1に近づくほど均等に細菌が存在することを示す。どちらにも有意差を認めなかった。

表6 各細菌の検出率

0.1%以上の検出率を得られた細菌は60菌種であった。そのうち、剥離上皮膜の有無にて細菌種の比較を行ったところ、剥離上皮膜あり群に有意に多く検出されたのは *Streptococcus agalactiae*, *Fusobacterium nucleatum subsp. vincentii*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Dialister micraerophilus* であった。*Peptostreptococcaceae*[XI] [G-9] [*Eubacterium*] *brachy* が剥離上皮膜なし群に有意に多く検出された。

図1 主座標分析による各サンプルの細菌叢の類似性

Weighted Unifrac 距離を用いた主座標分析により得られた散布図を示す。累積寄与率は、56.79%であった。プロットがサンプルを示す。プロットが近いほど細菌叢が似ていることを示し、離れているほど異なることを示す。剥離上皮膜なし群の細菌叢は集積し、あり群は広く分布しているが、一部、なし群と重なっていた。これより、口腔乾燥の悪化により細菌叢が移行的に変化していくと捉えることができた。

図2 剥離上皮膜の有無における酸素要求性の比較

剥離上皮膜の有無にて酸素要求性別細菌種の比較を行った。好気性菌、通性嫌気性菌、偏性嫌気性菌のいずれにおいても有意差は認めなかった。

経管栄養の要介護高齢者の口蓋細菌叢に与える
剥離上皮膜の影響

朝比奈 滉直

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

Impact of membranous substances on palatal microbiota of
older Japanese individuals undergoing tube feeding in
nursing care

Hironao Asahina

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)

目的

経管栄養患者の口蓋粘膜には剥離上皮膜がみられることがあり、剥離上皮膜除去時の出血や、喉咽頭への落下による気道閉塞などがリスクとして報告されている。さらに剥離上皮膜形成者に有意に発熱が認められ、経管栄養と肺炎に関連があることから、発熱原因として、除去時の出血部位からの局所感染や、咽頭・喉頭に落下した剥離上皮膜を介する口蓋粘膜細菌の呼吸器感染が考えられる。しかし、剥離上皮膜が認められる経管栄養者の口蓋細菌は、明らかにされておらず、細菌学的為害性は不明である。そこで今回、次世代シーケンス 16s rRNA メタゲノム解析にて口蓋細菌叢を検索するとともに、経管栄養者の口蓋細菌叢に関連する因子について検討した。さらに剥離上皮膜の有無で口蓋細菌を比較検討した。

対象者および方法

2017年5月から2019年5月までの間、対象施設にて入院・入所中であった19名が対象となった。対象者は経管栄養を必要とする65歳以上の要介護高齢者かつ、柿木の臨床診断基準で1度以上の口腔乾燥がみられるものとした。患者特性は看護記録と口腔内診査から調査した。口蓋に膜状物質が認められた場合には、それを標本にし、顕微鏡にて角質変性物が認められた場合、剥離上皮膜と診断とした。細菌検出は、口蓋をスワブで擦過し、得られたサンプルからDNAを抽出し、PCRで増幅した後、口腔常在微生物叢解析センターに送り、細菌の検出および細菌叢解析を依頼した。

分析方法として、経管栄養者の口蓋粘膜におけるサンプル間の細菌叢の類似性は、Weighted UniFrac 距離を用いた主座標分析にて細菌叢の類似度関係を視覚化し検討した。細菌叢に関連する要因は、第1主座標得点を目的変数に、患者特性を説明変数として相関比を算出し、検討した。また Mann-Whitney の U 検定を用いて、剥離上皮膜の有無において、 α 多様性を表す Shannon 指数と Simpson 指数の比較と細菌種の検出率の比較、酸素要求性別細菌種の検出率の比較を行った。

結果

11名の患者が剥離上皮膜を有していた。口蓋細菌叢に関連する要因探索として相関比の算出、相関行列を作成したところ、「剥離上皮膜」と「性

別」が独立した要因として抽出された。細菌叢の類似度を示す散布図は、剥離上皮膜なし群が原点から第 2 象限に集積し、剥離上皮膜あり群が全体的に広く分布し、一部なし群と重なるといった様相を示した。α多様性、酸素要求性の比較では剥離上皮膜の有無で有意差はなかった。

検出された細菌種は 260 菌種であった。そのうち平均検出率が 0.1% 以上の細菌を剥離上皮膜の有無にて比較したところ、*Streptococcus agalactiae* , *Fusobacterium nucleatum subsp.vincentii* , *Haemophilus parainfluenzae*, *Dialister microaerophilus* が剥離上皮膜あり群で有意に多く検出された。

考察

本研究により経管栄養者の口蓋細菌叢に最も関連する要因は剥離上皮膜であることが分かった。剥離上皮膜は強乾燥した口腔内に形成されるため、そのような口腔環境が口蓋細菌叢に関連したと考えられた。散布図によると、剥離上皮膜なし群の細菌叢は集積し、あり群は広く分布しているが、一部、なし群と重なっていた。これは、剥離上皮膜なし群の細菌叢が、口腔乾燥の悪化に伴い、移行的に剥離上皮膜あり群の細菌叢に変化していくと捉えることができた。α多様性、酸素要求性の比較では有意差はなかった。以上より、剥離上皮膜の存在は細菌叢全体を変化させるのではなく、一部細菌の比率を変化させるものと判断できた。

S. agalactiae と *H. parainfluenzae* は、剥離上皮膜あり群で有意に高い検出率を示した。これらの細菌種は肺炎と関連しており、また、剥離上皮膜と発熱は関連するとの報告があることから、剥離上皮膜を介した *S. agalactiae*, *H. parainfluenzae* の呼吸器感染による発熱への関与が疑われ、経管栄養の要介護高齢者の健康への悪影響が危惧される。

結論

経管栄養の要介護高齢者の口蓋細菌叢に最も関連するものは、剥離上皮膜であり、剥離上皮膜が形成される異常口腔乾燥状態が、肺炎と関連する細菌種を有意に多く検出させることが明らかとなった。よって、剥離上皮膜形成は要介護高齢者の健康を損なう可能性が考えられ、剥離上皮膜の形成予防や粘膜清拭が重要であることが示唆された。