

全文要旨

The oral microbiome of children with Down
syndrome

(ダウン症候群小児の口腔内細菌叢)

角 奈央

広島大学大学院医歯薬保健学研究科
博士課程 医歯薬学専攻

修了年度 (2019)

主指導教員：香西 克之 教授
(医系科学研究科 小児歯科学)

ダウン症候群（以下 DS）は 21 番染色体トリソミーの結果引き起こされる先天性疾患で、出生児に占める DS の割合は 1/600~1000 である。DS は特有の顔貌、心奇形、精神発達遅滞や早期アルツハイマー病発症などの神経疾患、免疫系・内分泌系の不全など、多くの症状を伴い、21 番染色体上にコーディングされるいくつかの遺伝子との関連が明らかになっているが、これらの症状をすべて説明し得る段階には至っていない。DS の口腔内は形態的、機能的、生理的にも特有な症状を持ち合わせており、特に高い歯周病発症リスクは歯の喪失など QOL 低下を招く。そのため DS における歯周炎早期発症の原因解明のため、小児期および成人期における細菌学的研究が行われており、特に PCR 法などを用いた歯周病関連細菌の定着の有無に着目した研究が数多く報告されてきた。しかしながら、口腔内には多くの細菌が存在しこれらがクオラムセンシングやその他コミュニケーションを通して相互的に影響し細菌叢を構成している。しかし、種々の要因により細菌叢のディスバイオーシスを起こすことで、疾患が引き起こされることがある。これまでに DS の口腔内細菌叢の全容を小児期から検討した報告はなく、本研究では DS 児における歯周状態に影響を与える細菌学的要因を明らかにするため、次世代シーケンサー (Next Generation Sequencer、以下 NGS)を用いて口腔内の実態や細菌叢を解析し健常児と比較した。

当院小児歯科を受診する 2 歳から 18 歳までの DS 児(男児 18 名女児 22 名、2 歳 ~ 18 歳、平均年齢 10.20 ± 4.45 歳)と健常児 (男児 18 名女児 22 名、2 歳 ~ 18 歳、平均年齢 9.31 ± 4.34 歳) のそれぞれ 40 名を被験者とした。臨床パラメータの比較検討を行い、その後ブラッシングにより得られたデンタルプラークから細菌 DNA を抽出し、次世代シーケンサーにより 16S rRNA(V4)メタ解析を行った。

臨床パラメータの比較検討より、健常児に比較し DS 児は歯肉の炎症が多く認められることや蝕有病者率が有意に低いこと、乳歯列から永久歯列への成長に伴う臨床所見の変化が健常児と異なることが明らかとなった。乳歯列で DS 児のプロービングによる出血率が有意に高く、永久歯列の歯肉炎症の評価も DS 児で有意に高かったが、一般的に歯肉の炎症や

う蝕に強く関連しているとされるデンタルプラーク量はいずれの歯列にも有意差を認めず、DS児において歯肉の炎症を引き起こす細菌学的要因が健常児と異なることが示唆された。

次に16S rRNAメタ解析では、両群間比較を行ったあと、歯列別および歯肉炎症の有無での検討を行った。解析ソフトにはQiime2を用い、rarefaction解析を行ったのち α 及び β 多様性、構成細菌種の比較を行った。その結果、健常児に比較しDS児により多くの種の多様性を認めることや、両群は異なる細菌叢であることが明らかとなった。また、成長に伴う歯列の変化や歯肉の炎症時における細菌種の数や細菌叢が異なることも明らかになり、特にDS群の混合歯列期は、健常児と比較して有意に細菌種の多様性に富むことが明らかとなった。構成細菌の相対存在比を属・種レベルで比較したところ、DS児で有意に多かった種は*Rothia mucilaginosa*、*Corynebacterium*、*Actinobacillus parahaemolyticus*、*Kingella potus*であり、歯肉炎および歯周炎との関連が報告されている細菌においては有意な差はなかった。

以上の結果から、DS児にはいずれの歯列においても健常児と比較し歯肉の炎症が認められるが、必ずしも歯肉炎や歯周炎に関連する細菌種が多く存在するわけではないことが明らかとなり、その要因の一つとしてDS特有の口腔内細菌叢が関連することが推測された。また、成長に伴う口腔内細菌叢の変化も健常児と異なることが明らかとなり、DSに対する口腔管理は、遅くとも混合歯列以降には歯周病予防に対する取り組みに着手するなど、DSにおける歯周病予防対策の介入時期を提言するものとなった。

今後は口腔内細菌叢解析を、トリソミーの型や心奇形のタイプ別などサンプリング条件を変えることで、より重症化しやすい歯周病との関連性やう蝕罹患率の低さの検討ができるものとする。また、それによりDSの早期に歯周病発症を引き起こす口腔環境の詳細を明らかにし、DSの口腔を介した健康促進に貢献すること、ならびにDSを通して得られた歯周病早期発症のメカニズムの解明を基に、健常児における歯肉炎から歯周炎への病態移行解明への一助となることを期待しつつ研究続行を行いたいと考えている。