

口腔微生物叢と歯のケアが腸内微生物叢に及ぼす影響

○花田信弘¹、野村義明¹、村田貴俊¹、岡本公彰¹

¹鶴見大学歯学部探索歯学講座教授

略歴：1953年福岡市生まれ。1981年九州歯科大学歯学部卒業。1985年九州歯科大学大学院歯学研究科修了。1990年岩手医科大学歯学部助教授。1993年国立感染症研究所部長。2002年国立保健医療科学院部長。2008年鶴見大学歯学部教授。現在に至る。

主な研究テーマ： *Streptococcus mutans* 及び他の口腔細菌の病原性

要約：唾液中には多くの口腔細菌（ 10^8 cfu/mL）が含まれている。計算上では1000億 cfu～1500億 cfuの口腔細菌が毎日腸管に流入している。口腔細菌は胃を通過するとき胃酸によって殺菌されるので基本的には腸内に定着しない。たとえば口腔細菌が胃を安全に通過したとしても、腸管には特殊化された上皮細胞が存在している。その上皮細胞によって分泌される抗菌タンパク質が小腸の上皮細胞と細菌との接触を妨げる。結腸には、ムチンによって形成された網状ポリマーがあり、細菌が上皮細胞に接触することを阻止する。さらにこの網状ポリマーには抗菌タンパク質が保持されていて、捕捉された細菌を殺すことができる。腸管にはこのような仕組みがあるために簡単には唾液により流入する口腔細菌の影響を受けないと考えられる¹⁾。

ところが、歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* の反復経口投与が回腸の腸内微生物叢の変化を介して内毒素血症を誘発し、それにより全身性炎症およびインスリン抵抗性を誘導することが動物実験で明らかにされた²⁾。 *P. gingivalis* の経口投与は、腸内微生物叢を有意に変化させ、腸内細菌の割合が減少し、血清エンドトキシン濃度が上昇した。腸組織では、腸の透過性に関与する遺伝子発現が下方制御されていた。より多くの量の細菌DNAが、感染マウスの肝臓で検出された²⁾。

この現象には歯周病菌の Outer membrane vesicle（外膜小胞（OMV））が関与していることが考えられる。 *P. gingivalis* には多数のOMVが存在している。無害な細菌のOMVはヒトの健康に貢献する免疫増強に働くが、有害な細菌のOMVは腸管の健康を損なうことが報告されている。たとえば無害な *Bacteroides fragilis* のOMVは、他の微生物に対して重要な栄養的役割を果たし、免疫細胞に対する抗炎症効果を促進する。しかし、ビルレンス因子を含む有害な *B. fragilis* は、大腸癌を含む腸疾患を惹き起こす³⁾。 *P. gingivalis* のOMVは、リポ多糖類（LPS）、線毛およびジンジパインを含む広範囲のビルレンス因子を含む。OMVは生物ではないので、胃酸や腸管のムチンによって形成された網状ポリマーの抗菌タンパク質にも影響を受けない。

口腔には歯が存在し、歯と舌の表面にはバイオフィームが形成されている。バイオフィームは、強い薬剤耐性と嫌気性の環境を持ち、歯周病菌だけでなくヘリコバクター・ピロリ菌のように口腔の常在微生物とはいえない細菌まで生息することが可能である⁴⁾。口腔バイオフィームを構成する細菌種の中には、*P. gingivalis*以外にもOMVを放出して、腸内微生物叢に悪影響を与える歯周病菌が多数含まれている。また、*Fusobacterium nucleatum*のFap2タンパク質は、T細胞免疫受容体との結合によってNK細胞媒介性腫瘍死滅を阻害する⁵⁾。このような機構により口腔の*F. nucleatum*は消化器系のがんに関連するのであろう。さらに、口腔の*Klebsiella pneumoniae*は、抗菌薬による腸内微生物叢の乱れに乗じて、腸管内に定着し、TH1細胞の過剰な活性化による炎症性腸疾患（クローン病や潰瘍性大腸炎）の発症を引き起こす⁶⁾。

このように、口腔細菌と腸管の健康には関連がある事が示されているので、人々の健康を維持するためには具体的な予防対策の提示が必要である。我々は、個人トレーと殺菌消毒薬を用いて歯面のバイオフィームを除去する口腔ケアの手法を開発した（Dental Drug Delivery System：3DS）。歯面のバイオフィームを3DSで繰り返し除去すると、もともと平均300菌種いた細菌種が平均150菌種に減少した。減少した細菌種を調べると、大幅に減少したのは*F. nucleatum*であった。一方で口腔常在菌のなかでも乳児の口腔に存在し、ヒトだけでなくチンパンジーでも固有のコア・マイクロバイオータを形成する*Streptococcus salivarius*はヒトに対する3DSによりその数を著しく増大させた。現在、我々は3DSの臨床試験で*P. gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*の口腔からの除菌を試みている。腸管とは異なりプロバイオティクス単独では、歯や舌の表面のバイオフィームを除去できない。口腔微生物叢と腸内微生物叢の改善のためには、歯科医療との連携が必要である。歯科医院で行う3DSによる口腔ケアと口腔のプロバイオティクスの組み合わせは、口腔と腸管の健康を維持するために必要な手法だと思われる。

参考文献

- 1) Johansson ME, Hansson GC. : . *Science*. 334 : 182-3, 2011.
- 2) Nakajima M, Arimatsu K, Kato T, et al. : *PLoS One*. 10 : e0134234, 2015.
- 3) Zakharzhevskaya NB, Vanyushkina AA, Altukhov IA, et al. : *Sci Rep*. 7 : 5008, 2017.
- 4) Yee JK. : *World J Gastroenterol*. 22 : 641-8, 2016.
- 5) Gur C, Ibrahim Y, Isaacson B, et al. *Immunity* 42 : 344-355, 2015.
- 6) Atarashi K, Suda W, Luo C, et al. : *Science*. 358 : 359-365, 2017.

Effect of oral microbiota and dental care to intestinal microbiota

○Nobuhiro Hanada¹, Yoshiaki Nomura¹,
Takatoshi Murata¹, Masaaki Okamoto¹

¹ Department of Translational Research,
Tsurumi University School of Dental Medicine

Brief curriculum vitae : Born in Fukuoka, 1953. Graduated from Kyushu Dental University School of Dentistry in 1981. Completed Doctor's Course, Graduate School of Dentistry, Kyushu Dental University in 1985. Associate professor of Iwate Medical University in 1990. Director of the National Institute of Infectious Disease in 1993. Director of the National Institute of Public Health in 2002. Professor of Tsurumi University School of Dental Medicine in 2008. To the present.

Major field of studies : Virulence properties of *Streptococcus mutans* and other oral bacteria.

Abstract : Saliva contains several oral bacteria (10^8 cfu/mL) . On an average, the count of oral bacteria ranges from 100 to 1500 billion cfu, which flow into the intestinal tract every day. Oral bacteria are killed by stomach acid and hence do not settle in the intestine. The antibacterial protein secreted by specialized epithelial cells limits the epithelial contact with oral bacteria in the small intestine. In the colon, there is a reticulated polymer formed by mucin, which prevents the contact of bacteria with epithelial cells. Furthermore, the mucus layer of colon is organized around the net-like polymer formed by mucin. The mucus layer acts as a mesh that retains the antibacterial proteins capable of killing the trapped bacteria. Because of this mechanism in the intestinal tract, we considered that it is not easily affected by oral bacteria flowing in with saliva¹⁾ .

However, repeated oral administration of *Porphyromonas gingivalis* elicits endotoxemia via changes in the gut microbiota of the ileum, and thereby induces systemic inflammation and insulin resistance²⁾. It is unclear why administration of *P. gingivalis* could affect gut microbiota composition, gut barrier function, and subsequent influx of gut microbiota into the liver. It is conceivable that outer membrane vesicles (OMVs) of *P. gingivalis* are involved in this intestinal permeability increment. *P. gingivalis* produces several OMVs. OMVs derived from harmless bacteria enhance immunity, contributing to human health; however, it is reported that harmful bacterial OMVs impair intestinal health. For

example, the OMVs of *Bacteroides fragilis* play an important nutritional role with respect to other microorganisms and promote anti-inflammatory effects on immune cells. However, toxigenic *B. fragilis* contributes to bowel disease, even leading to colon cancer³⁾. *P. gingivalis* OMVs contain a wide range of virulence factors including lipopolysaccharides (LPSs), pili, and a protease (gingipain). OMVs are not affected by stomach acid and antimicrobial proteins, because OMVs are not a living organism.

In the oral cavity, biofilms form on the surface of the teeth and tongue. Biofilm has strong drug resistance and form an anaerobic environment. It can contain not only periodontitis bacteria but also bacteria that are not indigenous to oral cavity like *Helicobacter pylori*⁴⁾. The oral biofilm contains not only *P. gingivalis*, but also many bacteria that release OMVs, which adversely affect the intestinal microbiota. In addition, Fap2 protein of *Fusobacterium nucleatum* inhibits NK cell-mediated tumor killing by binding to T cell immunoreceptor⁵⁾. Therefore, *F. nucleatum* in the oral cavity may be associated with cancer of the digestive system. Furthermore, *Klebsiella pneumoniae* in the oral cavity multiplies in those whose intestinal microflora is disrupted owing to long-term administration of antibiotics, settles in the intestinal tract, causing excessive activation of TH1 cells and eventually causing inflammatory bowel disease (Crohn Disease and ulcerative colitis)⁶⁾.

Therefore, oral bacteria are associated with the health of the intestinal tract, and it is necessary to find concrete preventive measures in order to maintain the health of people. We developed an oral care method to remove tooth biofilm using personal trays and sterilization disinfectants (Dental Drug Delivery System : 3DS). Repeated removal of the tooth surface biofilm in 3DS resulted in the reduction of the number of bacterial species. *F. nucleatum* decreased, while *Streptococcus salivarius*, which exists as the core microbiota in the oral cavity of not only in humans but also in chimpanzee, increased significantly. Currently, we are attempting to eradicate *P. gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* from the oral cavity in a 3DS clinical trial. Unlike in the intestinal tract, probiotics alone cannot remove the biofilm on the surface of the teeth and tongue. Therefore, professional care is also necessary for improving the composition of oral and intestinal microbiota. The combination of oral care by 3DS, conducted at a dental clinic, and probiotic of the oral cavity seems to be necessary to maintain oral and intestinal health.

References

- 1) Johansson ME, Hansson GC. : . *Science*. 334 : 182-3, 2011.
- 2) Nakajima M, Arimatsu K, Kato T, et al. : *PLoS One*. 10 : e0134234, 2015.
- 3) Zakharzhevskaya NB, Vanyushkina AA, Altukhov IA, et al. : *Sci Rep*. 7 : 5008, 2017.
- 4) Yee JK. : *World J Gastroenterol*. 22 : 641-8, 2016.
- 5) Gur C, Ibrahim Y, Isaacson B, et al. *Immunity* 42 : 344-355, 2015.
- 6) Atarashi K, Suda W, Luo C, et al. : *Science*. 358 : 359-365, 2017.