

研究者：影山 伸哉（所属：九州大学大学院歯学府 口腔予防医学分野）

研究題目：口腔粘膜免疫が乳幼児口腔マイクロバイオームの変動に及ぼす影響

目的：

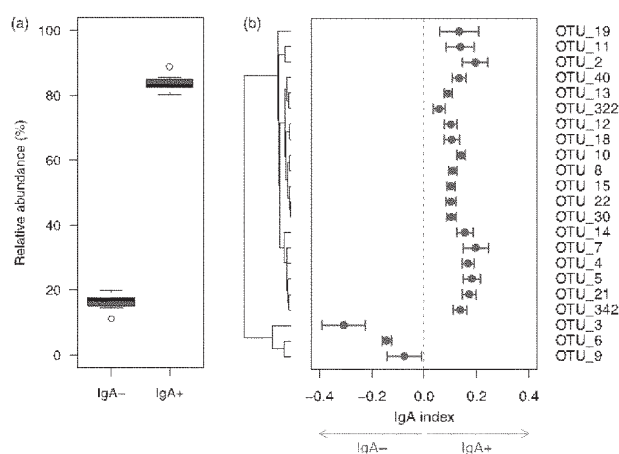
口腔には膨大な数の細菌が生息し、それらが複雑な微生物生態系を構築し生息している。これら口腔マイクロバイオーム（微生物叢）は、口腔疾患である歯周病やう蝕だけではなく、全身疾患である肺炎や肥満など様々な疾患に関わることが報告されているが、その細菌構成や恒常性、病原性などがどのように制御されているかは明らかになっていない。そこで我々は口腔の粘膜免疫において主要な働きを担うと考えられている唾液中のIgAに着目した。本研究では、乳幼児の口腔マイクロバイオームの成熟メカニズム解明の足がかりとして、成人の口腔マイクロバイオームに対する唾液IgAの認識機能について検討を行った。

対象および方法：

26歳から61歳の健康な成人男女8名に対し、刺激唾液の採取を行った。それぞれの唾液検体に含まれる口腔細菌を、Allophycocyanin（APC）で蛍光標識された抗IgA抗体によって染色し、セルソーターを用いてIgAが結合した細菌（IgA+細菌）とIgAが結合していない細菌（IgA-細菌）に分離した。分離した細菌からDNAを抽出した後、細菌共通配列であるプライマー8F、338Rを用いて16S rRNA領域（V1-V2領域）の遺伝子を網羅的に増幅した。増幅断片の塩基配列を次世代シーケンサーIon PGMを用いて解読し、IgA+細菌とIgA-細菌の同定を行った。

結果および考察：

フローサイトメーターを用いて各対象者の唾液マイクロバイオームを解析したところ、各検体におけるIgA+細菌の割合は $83.8 \pm 2.8\%$ であった(a)。腸管マイクロバイオームではIgA+細菌は40%前後と報告されており、腸管と比較して口腔ではほとんどの細菌にIgAが結合していることが明らかとなった。一方で、IgA結合指数を用いて主要な細菌種のIgA結合度を比較したところ、各対象者の年齢、性別、IgA濃度、細菌構成などに関わらず、一部の細菌にはほとんどの対象者で共通してIgAが結合していなかった(b)。今後はIgA結合に影響を与える遺伝子機能の解明や、



(a)唾液マイクロバイオームにおけるIgA+細菌とIgA-細菌の割合。(b)主要なOTU（菌種レベル）のIgA index。ソーティング前の唾液マイクロバイオームにおいて平均構成比率が1%以上であったOTUのIgA indexを示す。IgA+細菌は正の値を、IgA-細菌は負の値を示す。平均±標準偏差

IgA 結合と疾患との関連などについて検討を行っていききたい。

成果発表：

1. 第 65 回日本口腔衛生学会・総会（2016 年 5 月，東京）
2. 第 58 回歯科基礎医学会学術大会（2016 年 8 月，北海道）
3. 第 10 回日本ゲノム微生物学会若手の会研究会（2016 年 9 月，東京）
4. 6th International Human Microbiome Congress (IHMC) (2016.11, Houston)
5. Kyudai Oral Bioscience 2017 (KOB2017) (2017.2, Fukuoka)
6. 第 11 回日本ゲノム微生物学会年会（2017 年 3 月，東京）
7. 第 66 回日本口腔衛生学会・総会（2017 年 5 月，山形）