氏名（本籍）	石田直子（いしだなおこ）
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	歯博第697号
学位授与年月日	平成27年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	東北大学大学院歯学研究科（博士課程）歯科学専攻
学位論文題目	Microbiota profiling of bronchial fluids of elderly subjects with pulmonary carcinoma（肺癌に罹患した高齢者の気管支液の細菌学的プロファイリング）
論文審査委員	（主査）教授 高橋信博 教授 佐々木啓一　准教授 金高弘恭

論文内容要旨

肺炎は，日本人の死亡原因の第３位になっている疾患であり，高齢者がその約90％を占めていることから，高齢者の肺炎予防が重要と考えられる。高齢者では咳・嚥下反射の低下がみられ，口腔や咽頭の細菌が唾液や咽頭分泌液と共に肺に流れ込む不顕性誤嚥が起こり，これらの細菌が肺炎発症に関連している可能性が考えられている。そこで本研究では，高齢者の不顕性誤嚥の詳細について明らかにするために，口腔や咽頭部からの細菌混入を避けられるマイクロサンプリングプローブを用いて，気管支液のサンプリングを行い，不顕性誤嚥の程度を気管支液中のαアミラーゼ活性によって推定した。さらに試料中の細菌量および構成を培養ならびに分子生物学的手法によって明らかにし，咳・嚥下反射の低下程度と比較した。同時に唾液の細菌叢解析を行い，口腔内細菌との関連性を検討した。肺癌高齢者患者11名を対象とし，肺癌の手術２日前までに口腔衛生指導を施行し，咳・嚥下反射の測定を行った。被験者11名の内，咳反射の低下を認めた者はいなかったが，６名で嚥下反射の低下が認められた。嚥下反射低下群を反射低下群，そうでない者を正常群とした。気管支液は，マイクロサンプリングプローブを用いて採取し，一部の試料を用いてαアミラーゼ活性を測定した。その結果，健康な唾液αアミラーゼ活性よりも低値であったが，気管支液からαアミラーゼが検出された。このことから，気管支液の細菌は唾液を由来としている可能性が示唆された。残りの試料は血液寒天培地に接種し培養した。各コロニーからgenomic DNAを抽出し，PCR増幅を行った。得られたPCR産物を，制限酵素を用いて切断し，電気泳動パターンから細菌種のグループ分けを行った。さらに，PCR産物を精製し得られた塩基配列を相同性検索によってデータベースと照合し，97％超の相同性のものを同一の菌種としてリストを作成した。その結果，両群の細菌量に統計学的な有意差はなかった。また，気管支液の細菌構成では，両群の偏性嫌気性菌と通性嫌気性菌の比率はほぼ同等であった。しかし菌種レベルでは異なっており，反射低下群では *Campylobacter, Haemophilus, Staphylococcus, Bacillus,*

Lachnospiraceae が検出され，正常群よりも多様な細菌叢を形成していることが示唆された。比較対照のため，刺激唾液を気管支液試料と同様の手法を用いて細菌解析を行った。その結果，唾液の構成細菌は気管支液からも分離されたことから，気管支液中の細菌は口腔を由来としている可能性が考えられた。本研究において，マイクロサンプリングプローブを用いて目的部位以外の細菌汚染に極力配慮し気管支液試料を採取し，その細菌量および細菌構成を詳細に解析した。その結果，嚥下反射が低下した高齢者では口腔細菌がより誤嚥されている可能性があり，誤嚥性肺炎の発症の予防のためにも口腔衛生管理がより一層重要であることが示唆された。

審査結果要旨

近年，肺炎は急速に増加し，日本人の死因の第３位を占めるまでになった。高齢者に発症する肺炎の要因として誤嚥が挙げられ，その多くは咳・嚥下反射低下に伴う不顕性誤嚥による可能性が考えられている。しかし，高齢者における不顕性誤嚥の実態は不明であり，実際，唾液や咽頭分泌液の気管支への誤嚥によって唾液中や咽頭分泌液中の細菌がどれだけ気管支に存在するかについては全く分かっていない。その原因として，口腔から採取プローブを挿入して気管支液を採取する際に，口腔から咽頭部にかけて多数存在する各種細菌を混入しやすく，そこに存在する細菌が誤嚥によるものかどうかを判断することが難しいことが挙げられる。

そこで本研究では，高齢者の肺がん患者を対象とし，肺切除手術時の全身麻酔コントロール下で，細菌混入を避けることのできるマイクロサンプリングプローブを用いて気管支液を採取して細菌存在の有無を検討し，さらに存在する細菌を培養法にて定量・同定している。さらに，唾液に特異的に含まれる酵素αアミラーゼ活性を唾液誤嚥の指標とし，誤嚥の有無の裏付けを行っている。加えて，被験者に関し，咳反射および嚥下反射の低下の有無を計測し，誤嚥の実態との関連を検討している。

研究の結果，調べた全ての気管支液からαアミラーゼ活性が検出されたことから，咳・嚥下反射の低下の有無に関わらず不顕性誤嚥が生じていることが示唆された。さらに，全ての気管支液から細菌が検出され，咳・嚥下反射の低下の有無に関わらず同程度の数の細菌が存在することが示された。しかし，細菌の種類は被験者によって異なっており，反射低下群では，反射正常群からは殆ど検出されない *Campylobacter*，*Haemophilus*，*Staphylococcus*，*Bacillus* および *Lachnospiraceae* が検出され，正常群よりも多様性の高い細菌叢を形成していることが示された。また，気管支液から検出された細菌種は唾液からも検出されており，誤嚥された細菌が唾液由来であることを示唆している。

本研究によって，高齢者においては，咳・嚥下反射の低下の有無に関わらず，唾液や咽頭部に含まれる細菌の無自覚の誤嚥，いわゆる不顕性誤嚥が生じている可能性が示唆された。そこに存在する細菌種は多様であり唾液由来である可能性が高いこと，さらに反射低下に伴って存在する細菌種の多様化が高まることが示唆された。本研究で示された高齢者における不顕性誤嚥の普遍性，および反射低下に伴う誤嚥細菌の多様化は，高齢者の誤嚥性肺炎発症への脆弱さを示すとともに，高齢者における口腔衛生管理の重要性を示す貴重な知見であると思われる。

以上のことから，本研究は博士（博士）の学位に相応しいものと判断する。