

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
窪木 拓男 印	研究総括ならびに指導

学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野	インプラント再生補綴学	身分	大学院生	氏名	大森 江
論 文 題 名	要介護高齢者の腸内細菌叢と低体重および生命予後との関係				
論文内容の要旨 (2000字程度)					
<p>1. 緒言</p> <p>高齢者は低栄養に陥りやすく、特にフレイルや要介護状態になった高齢者では、栄養療法を実施しても改善がみられにくい。このような介入が奏効しない低栄養（治療抵抗性低栄養）は、基本的日常生活動作（ADL）の低下や死亡の重大な危険因子となっているが、その発症原因は未だ不明である。この治療抵抗性低栄養と歯の欠損や義歯の存在、栄養摂取ルートとの関連が検証されてきたが、多くの疫学調査の結果は強い関連がないことを示している。すなわち、治療抵抗性低栄養の病態解明には、口腔因子に加えホストの栄養吸収や代謝能力の評価が必要と考えられる。</p> <p>高齢者の腸内細菌叢については、成人と比較して細菌の多様性や安定性が低下する傾向にあり、特に高齢者施設の入所者では容易にディスバイオーシス（菌叢の不均衡・乱れ）に陥ること、また、高齢者施設入所者に乳酸菌を含む発酵乳を6ヶ月間摂取させると、便中の乳酸菌属が増加すること、便秘や下痢、発熱回数が減少することが報告されている。すなわち、腸内細菌叢が代謝に影響を与えること、摂取食品や摂取量が高齢者の腸内細菌叢に影響を与えることについてはエビデンスが蓄積されつつあるが、腸内細菌叢が高齢者の治療抵抗性低栄養発症に関与するかは十分検証されていない。</p> <p>そこで、本研究では「治療抵抗性低栄養も腸内細菌叢の変調によって発症・維持されているのではないか、さらには生命予後にも影響を与えているのではないか」と仮説を立て、栄養管理体制が整っている高齢者施設に入所中の要介護高齢者において、腸内細菌叢を同定し、腸内細菌叢と体重減少および生命予後との関係を明らかにすることを目的に、前向きコホート研究を実施した（倫理審査委員会承認番号：研1606-034）。</p> <p>2. 方法</p> <p>1) 対象</p> <p>目的対象は、2017年4月から5月に、研究協力を得た岡山県のある高齢者施設に入所している全要介護高齢者のうち、本研究参加について本人または代諾者の同意が得られた者とした。認知症による拒否行動のため便採取が困難な者、ベースライン調査前1ヶ月以内に抗菌薬投与を受けた者、経管栄養を受けていた者は除外した。本施設では、管理栄養士8名による栄養管理に加え、併設歯科医院による口腔管理および摂食指導が実施されている。</p> <p>2) 観察因子と調査方法</p> <p>ベースライン調査として、施設職員に依頼し、対象者の便検体を採取した。また、口腔内の状態は、1名の歯科医師（学位申請者）が調査対象施設の歯科診療録を閲覧し、対象者の現在歯数および機能歯数を調査した。全身状態の調査は、担当ケアマネージャーに調査票の記載を依頼し、年齢、性別、Body Mass Index (BMI)、要介護度、基本的日常生活動作 (Barthel Index : BI)、認知症の程度（臨床的認知症尺度：CDR）、食形態を調査した。</p> <p>予後調査として、ベースライン調査後1年ごとに、毎月の体重および生存情報を調査した。予後調査は、観察終了日である2021年8月1日まで4回実施した。</p> <p>3) 腸内細菌叢の解析</p> <p>便検体からDNAを抽出し、V4領域に対する特異的プライマーを用いて16S rRNA解析を行った。得られたデータから出現細菌 (Familyレベル) の相対比率 (リード数/検体のトータルリード数×100) を算出した。相対比率が0.1%未満の細菌は除外した。また、Shannonの多様度指数とSimpsonの多様度指数の逆数を用いて、出現OTUの多様度を確認した。</p>					

4) アウトカム

アウトカムは体重変化率および生存期間とした。体重変化率は、ベースライン時より3ヶ月後の体重変化率 (Weight Change Ratio of 3 months : WCR3) と6ヶ月後の体重変化率 (Weight Change Ratio of 6 months : WCR6) を算出した。生存期間は便採取日から観察終了日までの日数とし、観察終了日より前に研究対象者が死亡した場合は、死亡日をもって観察を終了した (最長観察期間1544日)。

5) 統計解析

細菌の多様度指数と各観察因子 (BMI, BI, CDR, 食形態, 現在歯数, 機能歯数, WCR3, WCR6) との相関解析を行った。体重減少リスク因子の検討に先立ち、細菌 (Familyレベル) の相対比率と各観察因子との相関を、ピアソンの積率相関分析を用いて確認した。そして、体重減少リスク因子は重回帰分析を用いて検討した。説明変数は、年齢, 性別, BMI, BI, CDR, 現在歯数, 食形態を投入した。

また、死亡のリスク因子の検討に先立ち、細菌 (Familyレベル) の相対比率上位11名/下位11名の2群に分け、カプランマイヤー法を用いて累積生存率を算出し、長期 (1544日)・中期 (688日)・短期 (309日) における累積生存率を、ログランク検定を用いて比較した。死亡のリスク因子はコックス比例ハザード分析を用いて検討した。長期・中期・短期のそれぞれの観察期間において、重回帰分析と同様の説明変数を用いて検討を行った。

3. 結果

1) 解析対象の基礎データ

包含基準を満たした26名のうち、ベースライン前1ヶ月以内に抗菌薬投与を受けていた2名と経管栄養を受けていた2名を除外し、22名 (平均年齢: 86.7±8.7歳, 男/女: 2/20名, 要介護度2/3/4/5: 4/6/8/4名, 平均BMI: 21.2±3.9) を目的対象とした。予後調査において追跡不能となった研究対象者はなく、この22名を解析対象とした。

2) 腸内細菌叢組成と多様性

解析対象者において、27種のOrderが検出され、平均相対比率はClostridiales目が58.7%, Lactobacillales目が5.5%, Bacteroidales目が12.1%, Enterobacteriales目が3.4%, Bifidobacteriales目が8.8%であった。また、多様度指数とBMI, BI, CDR, 食形態, 現在歯数, 機能歯数, WCR3, WCR6との相関関係は見られなかった。

3) 体重減少リスク因子の検討

WCR3の平均値は-1.04±3.36%, WCR6の平均値は-0.94±4.71%であった。単変量解析にてWCR3と有意な相関関係にあったClostridiales*科, Lactobacillaceae科, Synergistaceae科およびWCR6と有意な相関関係にあったClostridiaceae科, RF32*科, Paraprevotellaceae科について重回帰分析を行い、体重減少のリスク因子を検討した結果、Clostridiales*科の相対比率が高いことが、3ヶ月の体重減少のリスク因子として同定された ($\beta = -46.8$, $p = 0.007$)。他の細菌は有意なリスク因子として同定されなかった。

4) 死亡リスク因子の検討

観察終了までに16名が死亡しており、平均生存期間は806.6±562.8日であった。コックス比例ハザード分析の結果、中期観察期間において、Lachnospiceae科の相対比率が低いこと (ハザード比 [HR]=0.86, $p = 0.03$), Streptococcaceae科の相対比率が低いこと (HR=0.33, $p = 0.02$), Clostridiales*科の相対比率が高いこと (HR=1.38, $p = 0.002$)、ならびにBarnesiellaceae科が出現していないこと (HR=23.6, $p = 0.005$) が死亡の有意なリスク因子として同定された。また、長期観察期間において、Lachnospiceae科の相対比率が低いこと (HR=0.88, $p = 0.02$)、およびClostridiales*科の相対比率が高いことが (HR=1.40, $p = 0.001$) 死亡の有意なリスク因子として同定された。

4. 結論と考察

十分な栄養管理が実施されている要介護高齢者においても、3ヶ月後、6ヶ月後の体重は減少傾向がみられ、Clostridiales*科の相対比率が高いことが、年齢, 性別, BMI, BI, CDR, 食形態, 現在歯数で調整しても、体重減少と有意に関連する独立したリスク因子である可能性が示唆された。また、同様の説明変数で調整しても、Lachnospiceae科, Streptococcaceae科, Clostridiales*科, Barnesiellaceae科の相対比率の多寡が中期的な生命予後と、Lachnospiceae科, Clostridiales*科の相対比率の多寡が長期的な生命予後と、それぞれ有意に関連する独立したリスク因子である可能性が示唆された。本研究は、要介護高齢者の体重減少および生命予後と腸内細菌叢の関連を報告した初めての研究であるが、ベースラインの腸内細菌叢がどの程度の期間、体重変化や生命予後に影響を与えるかは十分明らかになっておらず、今後は同一体内の腸内細菌叢の経時的な変化と体重変化や生命予後との関連を検討する必要があると考えられる。