

8 メタゲノム解析手法の登場と 口腔常在微生物叢に関する新たな知見

2000年代に入り、培養を介さずに微生物群集から抽出したDNAの混合物（メタゲノム）を分析する細菌構成解析手法が確立され、ヒト常在微生物叢の研究にも用いられるようになった。この手法は、検体から各菌種を単離し培養する工程を伴わないことから、解析にかかる時間、労力、コストが大幅に削減されるうえ、培養のむずかしい菌種も含めて把握することができる。

歯科においてもデンタルプラーク、舌苔、唾液といった口腔微生物群集検体について、本手法を用いた再解析が進められ、健康状態にかかわる菌種や構成パターンについて新たな知見が得られている。

1

メタゲノム解析の方法

メタゲノムの分析に基づく細菌構成解析では、微生物群集から直接抽出した細菌DNAの塩基配列を決定することで細菌構成を明らかにする。一般的には、まずメタゲノムから細菌16S rRNA遺伝子をPCR法により回収する。16S rRNA遺伝子は、30Sリボソームを構成するRNAをコードする1,500塩基程度の遺伝子であり、ほぼすべての細菌が保有する。この遺伝子上には、細菌に共通する塩基配列部位が複数存在することから、これらをPCR法におけるプライマーとすることで、微生物群集に含まれるさまざまな細菌種の16S rRNA遺伝子を網羅的に回収できる。一方で、本遺伝子のその他の部分の塩基配列は菌種ごとに異なる。したがって塩基配列を決定し、その配列と一致する既知の菌種をデータベースから検索することで菌種同定が可能である。こうした菌種同定を繰り返すことでその微生物群集を構成する菌種とそれぞれの占める割合が明らかとなる（図6-10）。

2000年以降、塩基配列を決定するDNAシーケンサーの解読速度と解読したDNAを分析するコンピュータの処理速度が劇的に向上した。これにより多数の微生物群集検体の比較解析も十分に可能になった。

2

メタゲノム解析手法により明らかとなった口腔常在微生物叢に関する知見

2001年に報告されたヒト歯肉縁下デンタルプラークの16S rRNA遺伝子を用いた大規模解析では、解読した2,522の16S rRNA遺伝子のうち約40%がデータベースに登録のなかった配列であり、口腔にまだ分離同定されていない菌種が多数存在することが明らかとなった。その後も、口腔に存在する菌種を未培養の菌種を含めて把握する試みは続けられ、口腔細菌のゲノム情報を収載する expanded Human Oral Microbiome Database には、2023年時点で774菌種（26%が未分離の菌種）が登録されている。

口腔微生物群集検体の全体構成の把握が可能になったことで、う蝕や歯周病の病因論も変わりつつある。う蝕は、従来のミュータンスレンサ球菌を病因の中心とする考え方から、*Lactobacillus* や *Actinomyces*, *Atopobium* といったその他の酸産生菌も含めた細菌群集の全体構成のシフトによるものとしてとらえられるようになってきている。また、歯周病についても *Filifactor alosis* をはじめとする17の菌種について *Por-*

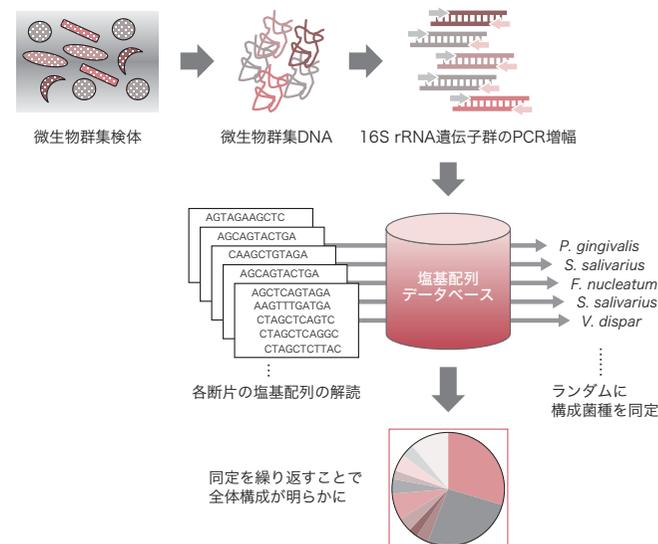


図 6-10 16S rRNA 遺伝子を用いた細菌構成解析の流れ

phyromonas gingivalis を含む red complex bacteria 3 菌種と同等に関連している可能性が指摘され、検証が進められている。

こうした再解析の結果は、口腔細菌と歯科疾患とのかわりがかこれまで考えられてきた以上に複雑であることを示唆し、さらなる研究による解明が急がれている。