



2021年1月29日

国立大学法人東北大学東北メディカル・メガバンク機構
国立研究開発法人日本医療研究開発機構

お口の中には健康のヒントがいっぱい ～日本初の大規模口腔マイクロバイオーーム解析～

【発表のポイント】

- 1,000人規模の日本人集団で複数部位(唾液・歯垢)の口腔マイクロバイオーーム^{*1}を比較した解析結果を、日本で初めて発表しました。
- 解析結果から、唾液と歯垢の「マイクロバイオーーム間のコミュニティ構造の違い^{*2}」を明らかにし、微生物の多様度が歯周病の重症度と相関していることを示しました。
- 今回得られたマイクロバイオーーム解析結果から、個人識別性を排除した情報をインターネット上で広く公開し、詳細な結果は分譲^{*3}により全国の研究者間の利活用に供し、多様な研究に貢献します。

【概要】

ヒトの健康状態は、共生している様々な微生物の各々の集団(マイクロバイオーーム)と密接に関連しています。東北大学東北メディカル・メガバンク機構(ToMMo)では、長期健康調査の詳細調査参加者25,014人分の口腔検体(唾液・歯垢・舌苔)を採取し、生体試料のバイオバンクとして保存しています。

今回、これらの検体から、唾液および歯垢1,289人分のマイクロバイオーーム解析を実施し、唾液と歯垢の「マイクロバイオーーム間のコミュニティ構造の違い」を明らかにしました。また、微生物の多様度が、歯周病の重症度と相関していることを示しました。マイクロバイオーーム解析の結果は「情報分譲」が可能です。そして、微生物の平均存在量等については、宿主であるヒトの情報がセットになった日本で初めての大規模データとしてjMorp^{*4}にて公開しています。マイクロバイオーームは生活環境や民族集団により特徴があるとされており、今回の解析結果を研究者間で共有することにより、日本人の健康増進への寄与が期待されます。

この成果は、日本時間2021年1月29日に、オープンアクセス学術誌「Frontiers Cellular and Infection Microbiology」のオンライン版で公開されました。

【詳細】

<研究の背景>

人体に共生する微生物は、宿主であるヒトの生存に不可欠な機能を提供しており、その働きやメカニズムは古くから注目され研究されてきました。近年、大量の DNA 配列情報を短時間に解析できる次世代シーケンス技術の登場によって、微生物集団のゲノムを網羅的に解析することが可能になり、微生物がヒトの健康にどのような影響を与えているのかが分子レベルで明らかになりつつあります。2012 年には米国国立衛生研究所 (NIH) が主導した、ヒトマイクロバイームプロジェクト (HMP) が約 200 人の全身のマイクロバイームの構成を明らかにし、疾患を引き起こすことが知られている微生物が、健康なヒトの体にも保持されていることなどを報告しました。

中でも口腔内に生息する細菌は、それらの個々の DNA 配列に基づく解析から 700 種類以上が同定されており、歯の表面、歯周ポケット、舌、頬粘膜など環境の異なる部位にそれぞれ特徴的な集団を形成します。口腔マイクロバイームにおける微生物のバランスは、口腔そして全身の健康と密接に関係しています。

<研究の詳細>

● 口腔検体収集のデザイン

ToMMo では、ヒトマイクロバイームからヒトの健康と疾患を理解することを目的とし、ToMMo が宮城県内に設置する地域支援センターでの詳細調査で実施した歯科検診と合わせて、歯科医師による 3 種類の口腔検体 (唾液・歯垢・舌苔) の採取を行いました。2013 年 10 月から 2016 年 5 月までの期間に、口腔検体の採取に同意した参加者は 25,014 人 (地域住民コホート 17,263 人、三世代コホート 7,751 人) であり、約 15 万本の試料がバイオバンクに保存されています (図 1 および表 1)。これらの試料には歯科関連調査のデータが付随しており、調査の内容はすでに成果として報告されています^a。また、口腔内細菌のゲノム解析手法を詳細に検討した論文を発表しています^{b,c}。

a: <https://www.megabank.tohoku.ac.jp/news/40096>

b: <https://www.megabank.tohoku.ac.jp/news/15221>

c: <https://www.megabank.tohoku.ac.jp/news/11103>

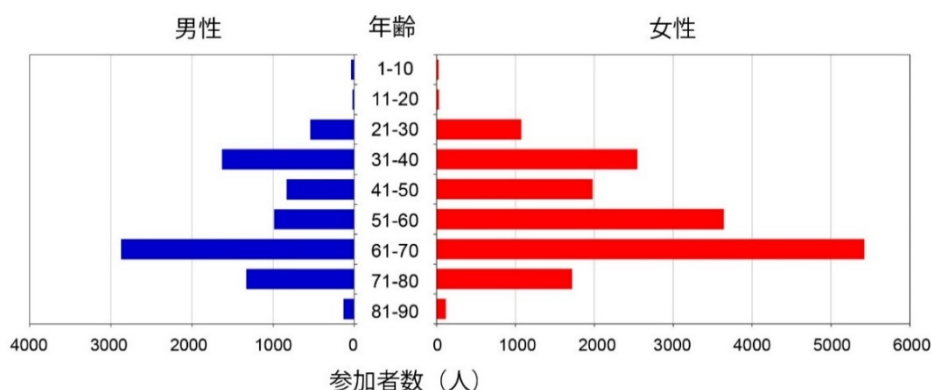


図 1. 口腔検体を採取したコホート参加者の性別および年齢の分布

		地域支援センターを訪れた回数			合計
		1回目	2回目	3回目	
口腔検体を採取したコホート参加者		25,014	86	1	25,101
唾液	全唾液	24,868	85	1	24,954
	唾液上清	24,423	83	0	24,506
	唾液沈殿物	24,464	84	0	24,548
歯肉縁上歯垢	右大臼歯	24,889	82	1	24,972
	左大臼歯	24,876	82	1	24,959
舌苔		24,988	82	1	25,071

表 1. 口腔試料の採取・保管数

●唾液および歯垢のマイクロバイオーーム解析

今回の論文では、地域支援仙台センターで歯科医師が検診を行った参加者のうち、45～69歳で20本以上の歯を有する1,289人(男性519人、女性770人)の唾液および歯垢マイクロバイオーームを比較しました。唾液と歯垢(右側第一大臼歯)から採取・抽出したDNAにおいて、微生物ゲノム由来の16SリボソームRNA遺伝子の可変領域(V4領域)^{*5}をPCR増幅して、そのDNA塩基配列を解析しました。その結果、唾液で232種類、歯垢で259種類の特異的な配列が見つかり、16SリボソームRNA遺伝子データベース(Greengenes)^{*6}検索によって、それぞれに特徴的な配列をもつ微生物種を同定しました。

さらに、歯科健診情報との比較解析を行い、口腔内に含まれる微生物の多様度が深さ4mm以上の歯周ポケットをもつ歯の割合や最も深い歯周ポケットの深さと相関していること、歯周病のある人の唾液・歯垢でともに微生物の種類が増加することを明らかにしました(図2)。

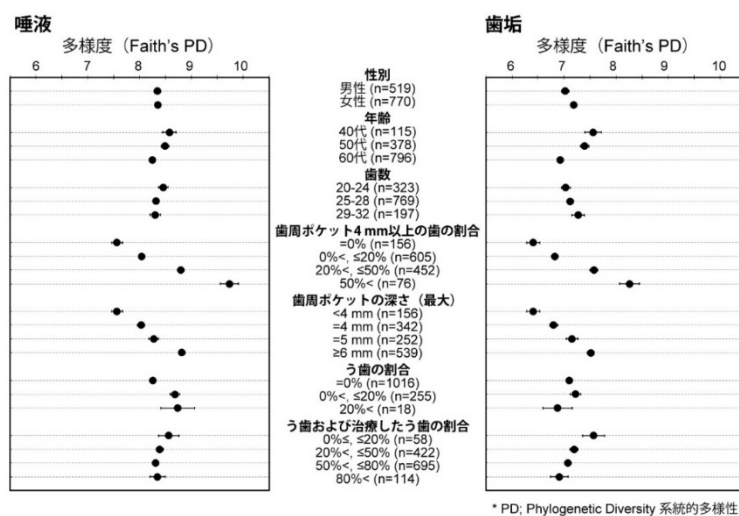


図 2. 唾液・歯垢マイクロバイオーームの多様度

また、口腔マイクロバイオームの生態学的特徴を調べるために「共起ネットワーク解析*7)」を行い、歯垢に存在する微生物の間には唾液に比べて強い相関関係があることを明らかにしました(図 3)。これは、歯の表面では唾液と比べて微生物が密に集まって生息しており、相互に作用しながらバイオフィルム*8)を形成し、歯周病菌のような病原性の高い細菌が活動しやすい環境を生み出していることを反映した結果であると考えられます。

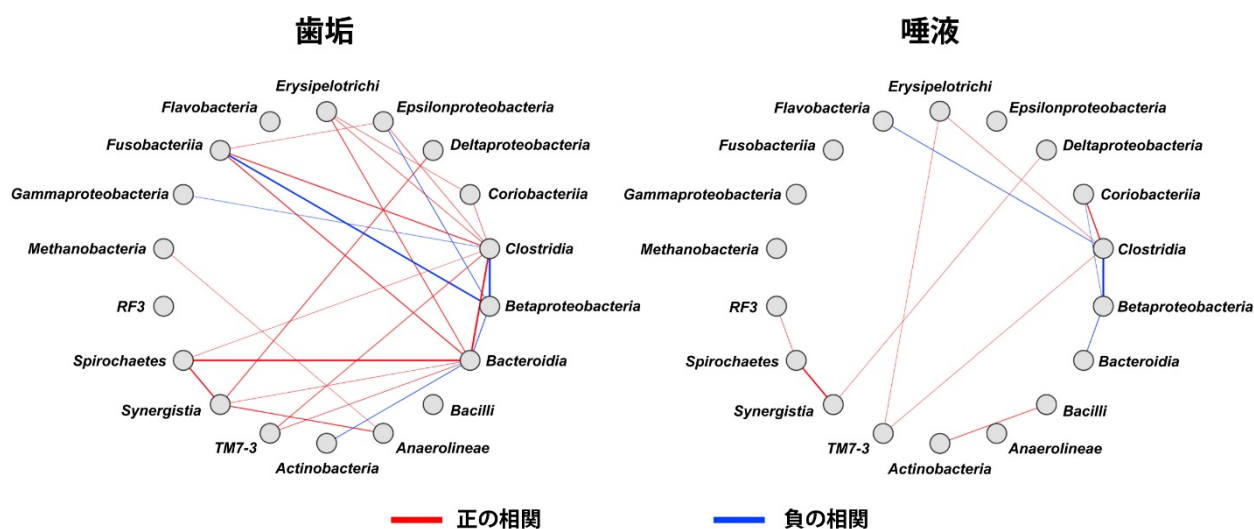


図 3. 口腔微生物コミュニティの共起ネットワーク(網レベル)
線の太さは微生物の間の相関の強さを示す。

● 試料・情報の共有

ヒトマイクロバイオームが jMorp に新たな機能として追加されました。今回の口腔内の微生物ゲノム解析により、明らかになった日本人集団の口腔マイクロバイオームの詳細な情報は、jMorp のヒトマイクロバイオーム用ページ (<https://jmorp.megabank.tohoku.ac.jp/202102/microbes>) で公開されています。この jMorp 公開情報から、微生物の各分類階級(門・綱・目・科・属・種)で、検体の種類(唾液・歯垢)、歯周病の重症度、別の統計情報を検索することができます。また、16S リボソーム RNA 遺伝子シーケンスの配列情報 (fastq 形式、V4 領域) の分譲を可能としています。

< 今後の展望 >

ToMMo では引き続き口腔マイクロバイオームの全身疾患への関与を明らかにするため、慢性閉塞性肺疾患や代謝性疾患、糖尿病などの疾患をもつ集団の唾液・歯垢、舌苔の微生物ゲノム解析を推進しています。それと並行して、微生物集団の全ゲノムシーケンス(メタゲノム解析)*9)の解析パイプラインを確立し、マイクロバイオームの機

能の理解に向けて微生物の遺伝子に注目した解析を進めることが可能になります。これらの解析結果は将来的に公開、分譲される予定です。今後、宿主であるヒトのマルチオミクスデータとの統合解析によって、ヒトと微生物との相互作用が明らかになり、マイクロバイオーームを標的とした疾患の新しい予防法や治療法の発見に貢献すると、期待されます。

【論文題目】

タイトル: Oral microbiome analysis in prospective genome cohort studies of the Tohoku Medical Megabank Project

日本語タイトル:「東北メディカル・メガバンク計画の前向きゲノムコホート研究における口腔マイクロバイオーーム解析」

著者: 齋藤 さかえ、青木 裕一、玉原 亨、後藤 まき、松井 裕之、川嶋 順子、檀上 稲穂、寶澤 篤、栗山 進一、鈴木 洋一、布施 昇男、呉 繁夫、山下 理宇、田邊 修、峯岸 直子、木下 賢吾、坪井 明人、清水 律子、山本 雅之

掲載誌: *Frontiers Cellular and Infection Microbiology*

掲載日: 2021 年 1 月 29 日

DOI: 10.3389/fcimb.2020.604596

【参考】

<東北メディカル・メガバンク計画について>

東北メディカル・メガバンク計画は、東日本大震災からの復興事業として平成 23 年度から始められ、被災地の健康復興と、個別化予防・医療の実現を目指しています。ToMMo と岩手医科大学いわて東北メディカル・メガバンク機構を実施機関として、東日本大震災被災地の医療の創造的復興および被災者の健康増進に役立てるために、合計 15 万人規模の地域住民コホート調査および三世代コホート調査を平成 25 年より実施し、収集した試料・情報をもとにバイオバンクを整備しています。

東北メディカル・メガバンク計画は、平成 27 年度より、日本医療研究開発機構 (AMED) が本計画の研究支援担当機関の役割を果たしています。

【用語説明】

- *1 口腔マイクロバイオーーム: 口腔内に生息する微生物全体を指す。微生物叢(そう)とも呼ばれる。
- *2 マイクロバイオーーム間のコミュニティ構造の違い: ここでは、唾液・歯垢それぞれについて微生物の種類と相対的な存在量を解析し、その成り立ちの違いを表したものの。
- *3 分譲: 東北メディカル・メガバンク計画では、大規模ゲノムコホート調査由来の試料・情報を分譲することにより多くの研究者と共有している。分譲は所定の登録・審査の手続きを経て実施される。

- *4 jMorp: 公開データベース日本人多層オミックス参照パネル(jMorp: Japanese Multi Omics Reference Panel)。東北メディカル・メガバンク計画のコホート調査によって得られた試料を解析した結果を、個人識別性のない頻度情報等にして公開している。今回公開したマイクロバイーム情報は、“Metagenome”のページで閲覧できる。
- *5 16S リボソーム RNA 遺伝子の可変領域(V4 領域): 16S リボソーム RNA 遺伝子は 9 つの可変領域(V1~V9)とその間に存在する保存領域で構成されている。可変領域は微生物の系統間で配列に変化が生じている場合が多く、微生物の同定に利用されている。
- *6 16S リボソーム RNA 遺伝子データベース(Greengenes): 微生物種がもつ 16S リボソーム RNA 遺伝子配列を集めたデータベース。
<https://greengenes.secondgenome.com/>
- *7 共起ネットワーク解析: 集団中に存在する微生物の間の関連性を表す。多くの検体で同じように増加または減少している 2 種類の微生物は赤いライン(図 3、正の相関)でつながれている。反対に、一方が増加し他方が減少している 2 種類の微生物は青いライン(図 3、負の相関)でつながれている。
- *8 バイオフィーム: 固体の表面に付着した微生物と微生物がつくる多糖体(菌体外粘性多糖体)によって形成された構造体。
- *9 全ゲノムシーケンス(メタゲノム解析): 16S リボソーム RNA 遺伝子だけではなく全ての遺伝子を含むゲノム配列を対象とした網羅的な解析。

【お問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学東北メディカル・メガバンク機構
メタゲノム室

室長 清水 律子(しみず りつこ)

電話番号:022-272-3102

(報道担当)

東北大学東北メディカル・メガバンク機構
長神 風二(ながみ ふうじ)

電話番号:022-717-7908

ファクス:022-717-7923

E メール:pr@megabank.tohoku.ac.jp

(AMED 事業に関すること)

日本医療研究開発機構(AMED)
ゲノム・データ基盤事業部 ゲノム医療基盤
研究開発課

ゲノム医療実現推進プラットフォーム事業
(先端ゲノム研究開発:GRIFIN) 事務局

電話番号:03-6870-2228

E メール:genome-platform@amed.go.jp