

P-05

DNAチップによる歯肉溝滲出液中の口腔内細菌叢解析と臨床情報の関連

株式会社ジーシー

○ 笹部奈津季, 高山和人, 船橋英利, 熊谷知弘



OBJECTIVES

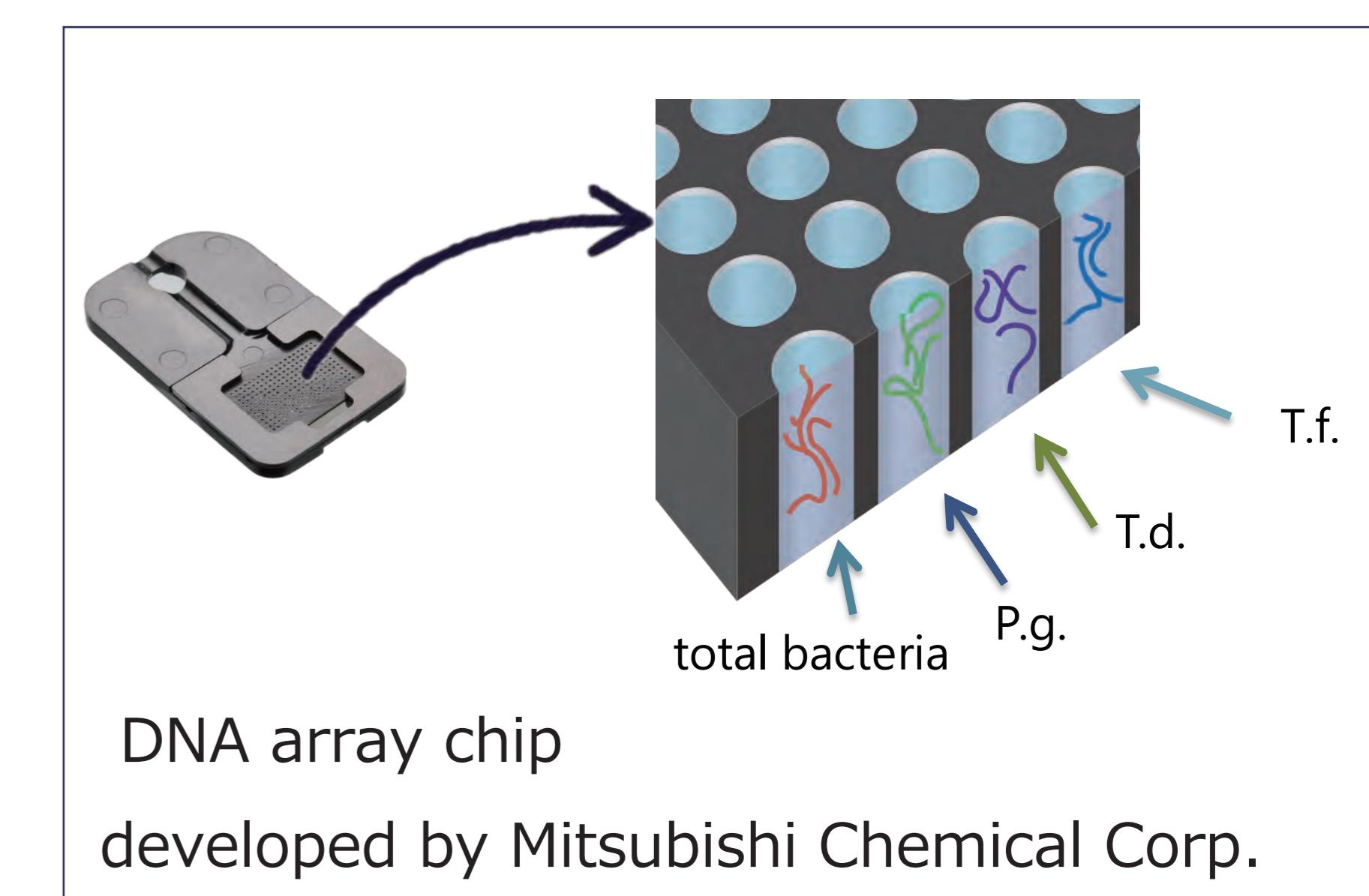
歯周病の発症・進行には口腔内細菌の存在バランスの崩れ、つまり、細菌叢の乱れ（ディスバイオーシス）が関わっていると考えられる。既存の細菌検査では歯周病関連細菌のうち、特に病原性の高い細菌数菌種を対象としているが、DNAチップによる細菌検査では数十種類の歯周病関連細菌を一度に評価でき、細菌叢の情報を得ることが可能となる。三菱ケミカル社製のDNAチップでは歯周病関連細菌28種類および総菌数を一度に測定することができる。本研究では、DNAチップを用いた口腔内細菌叢の解析結果と歯周組織検査による臨床所見との関連性を評価した。



MATERIALS & METHODS

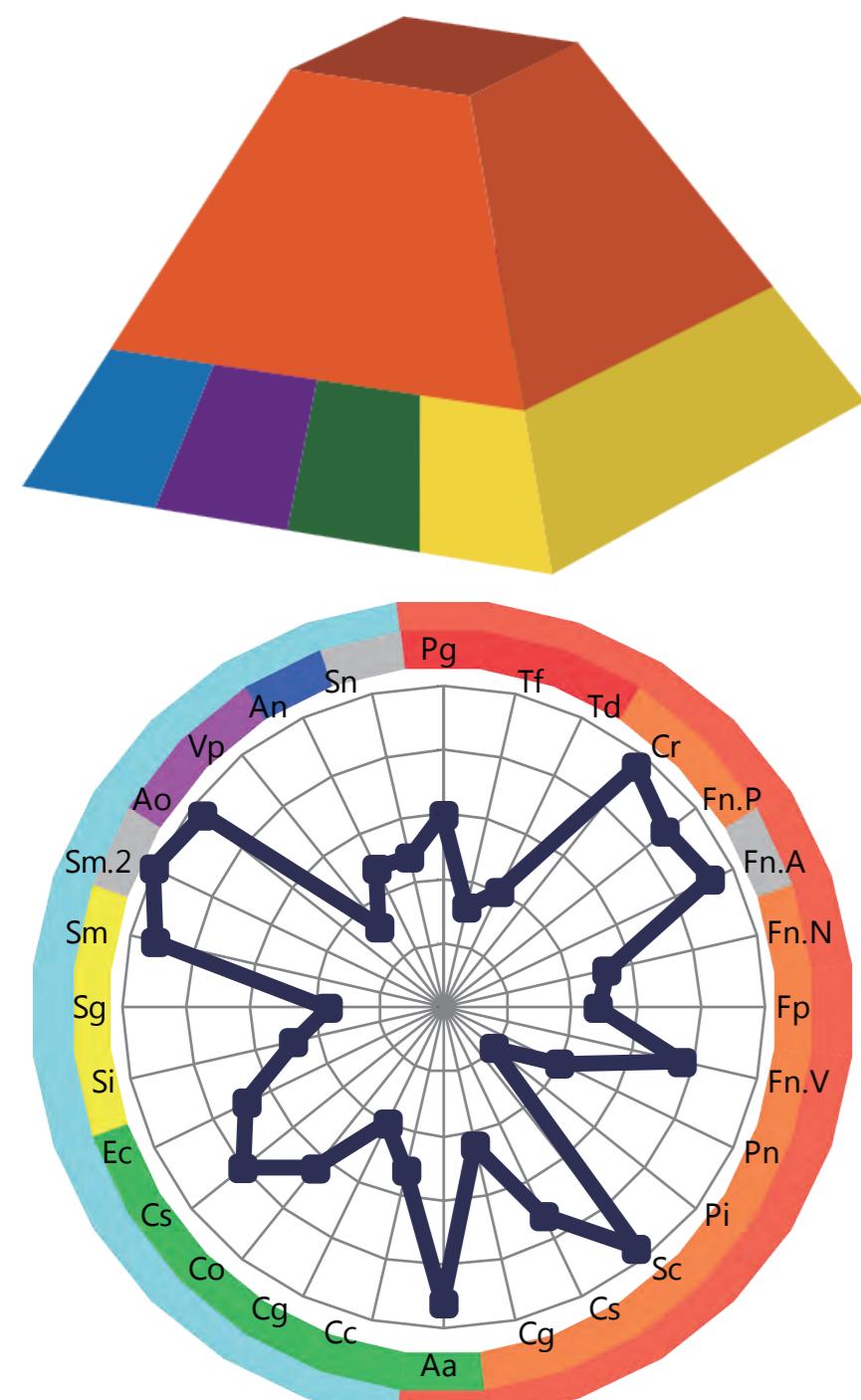
本試験は株式会社ジーシーの倫理委員会の承認を得て実施した。

被験者9名を集め、歯肉溝滲出液を2~3箇所から採取した。得られた歯肉溝滲出液からDNAを抽出し（QuickGene800/KURABO）、検体に含まれる細菌中の16SrRNAのV3・V4領域をPCRにて増幅および蛍光標識を行った。総菌および28種類の歯周病関連細菌を検出するプローブを搭載したDNAチップ（三菱ケミカル社）とハイブリダイゼーションさせ、蛍光強度を測定した。得られた細菌叢についてクラスター解析を行って3群に分類した。それぞれの群について、ポケット深さの平均値およびBOP陽性率を算出した。クラスター解析にはJUSE-StatWorks（日本科学技術研修所）を用いた。

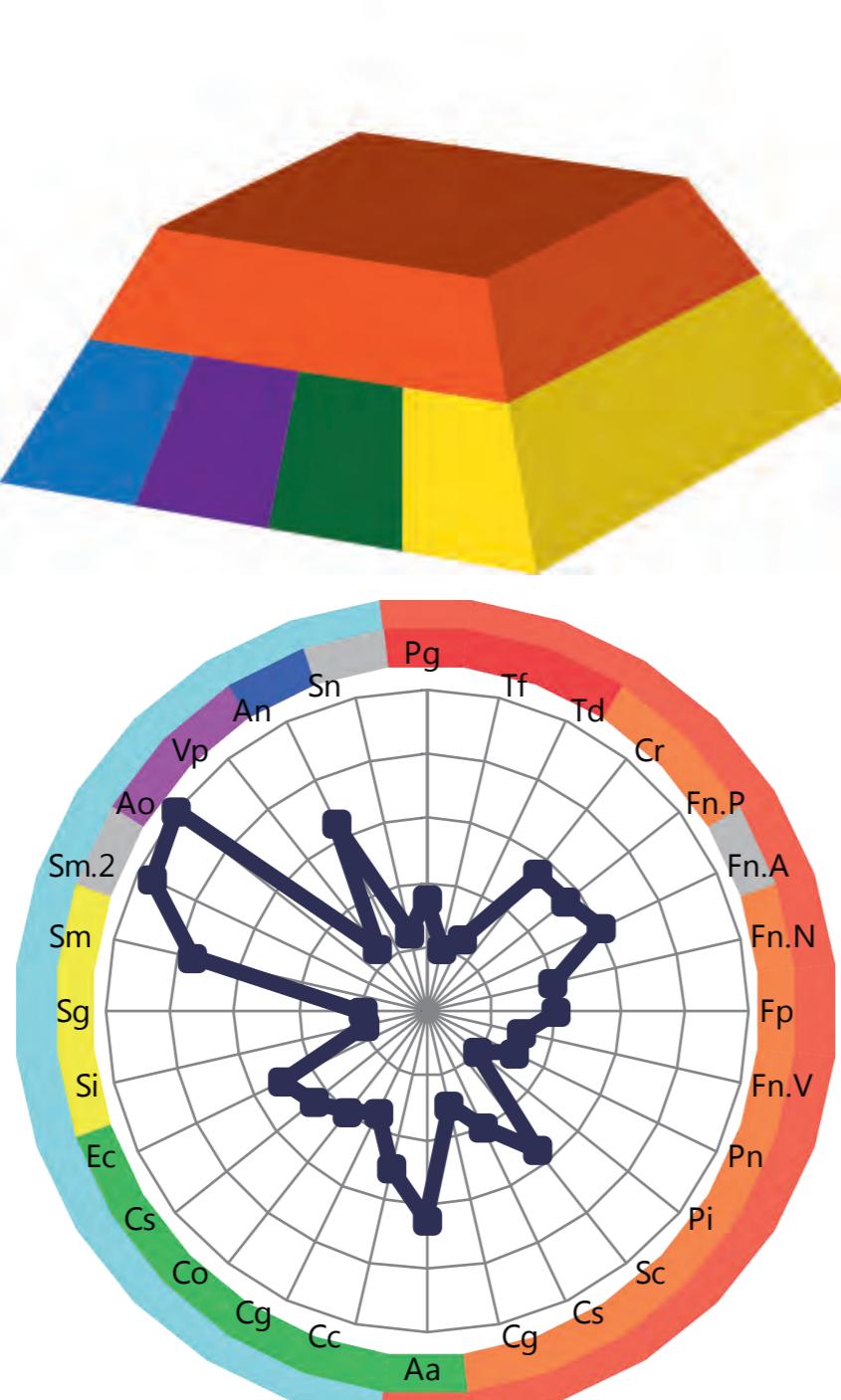


RESULTS & DISCUSSION

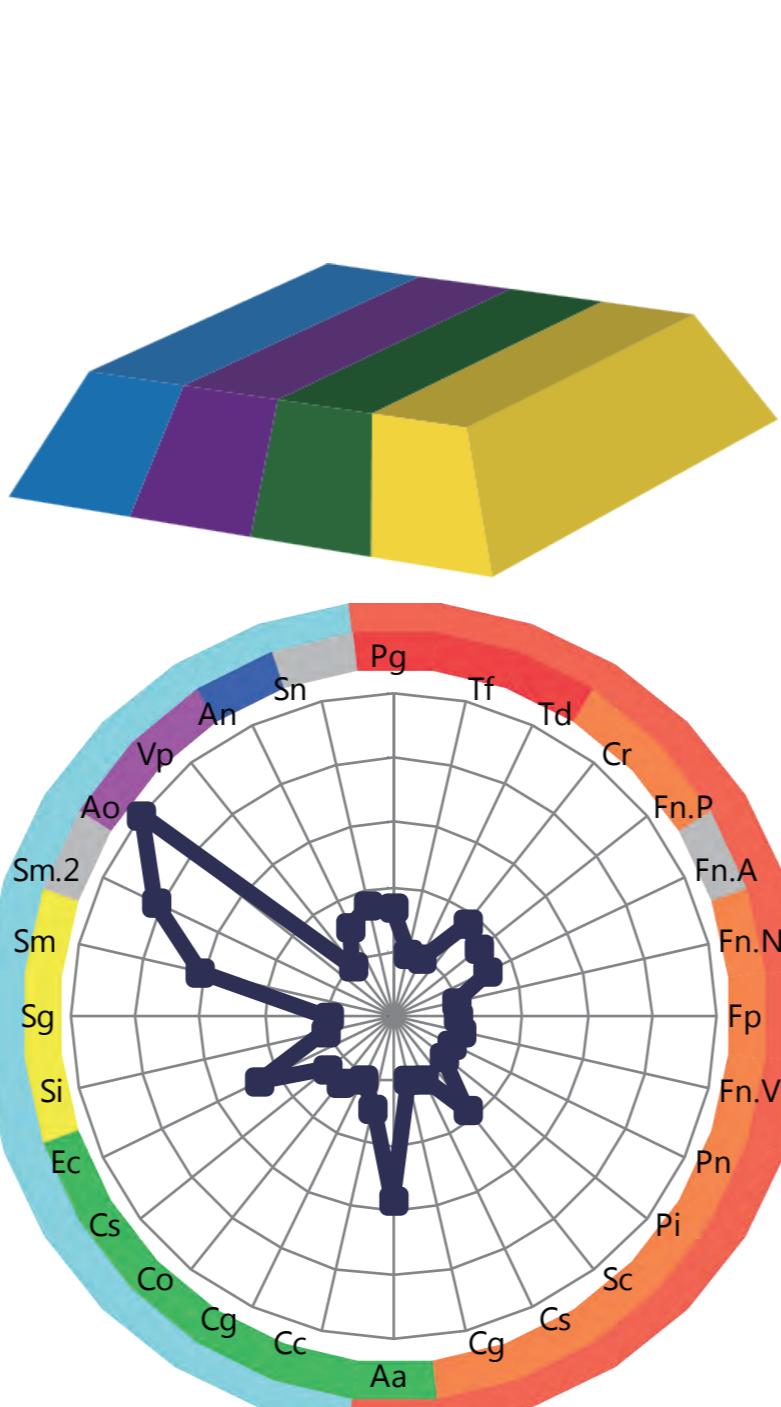
クラスター1



クラスター2



クラスター3



	クラスター1 (n=5)	クラスター2 (n=4)	クラスター3 (n=13)
ポケット深さの平均	4.4mm	3.5mm	2.7mm
BOP陽性率	60%	0%	0%

Fig.1 6mm以下の歯周ポケット中の細菌叢の解析

ポケット深さ 6mm以下の歯周ポケットから採取した検体 (n=22)においてクラスター解析を実施し、3群に分類した。

Socransky SS, Haffajee AD: Periodontology 2000, 28: 12-55, 2002.

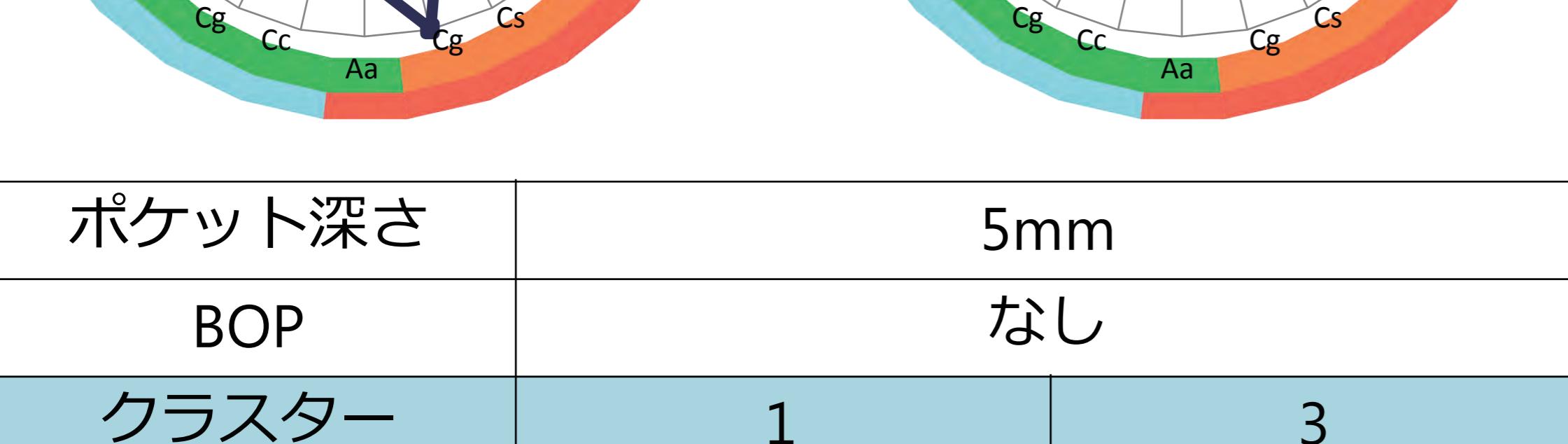


Fig.2 臨床所見が同じ歯周ポケット中の細菌叢

- クラスター解析の結果、クラスター1ではクラスター2に比べてレッドコンプレックスの細菌を引き寄せるオレンジコンプレックスの細菌が多く検出され、重症化のリスクが懸念される。

- 歯周組織検査の結果 (PD、BOP) が同じでも、その細菌叢が異なることから、歯周炎の進行度合が異なることが示唆された。

以上の結果より、本研究で実施したDNAチップを用いた細菌検査では、歯周ポケット内の細菌叢をみることによって、基本歯周組織検査のみでは分からないリスク評価が可能となることが期待される。

CONCLUSION

DNAチップを用いた細菌検査では一度に28種類の歯周病関連細菌を測定することが可能であり、数菌種を対象とした従来の細菌検査と比較して、より詳細に歯周ポケット内の状態を知ることができ、基本歯周組織検査では分からないリスクを明らかにできると期待される。本研究では比較的ポケットの深い被験者を中心に行なったが、今後はポケットの深い被験者も対象としデータを収集していく予定である。