

研究課題 (テーマ)		メタゲノム解析によるアムホテリシン B(AMPH-B)の口腔環境改善メカニズムの解明	
研究者	所属学科等	職	氏名
代表者	生物工学科	准教授	大島 拓
分担者	鶴見大学歯学部 口腔微生物学	学内教授	大島 朋子
	講座 千葉大学真菌センター	准教授	高橋 弘喜
	富士製薬工業株式会社 技術研究課		草塩 英治
	富士製薬工業株式会社 製剤研究 G	マネージャー	野嶋 秀明
研究結果の概要			
<p>富士製薬工業株式会社は、鶴見大学歯学部との共同研究で、抗真菌剤であるアムホテリシン B (以下 AMPH-B) を含有する製剤の口腔内投与により、口腔内環境が劇的に改善することを見出して来た。この効果のメカニズムを明らかにするため、近年、用いることが可能となったロングリードシーケンサー (ナノポア) による新たな解析を行った。これまで、口腔内に住む、様々な真菌・細菌により形成される集団 (菌叢) の研究には、すべての生物が有するリボソーム RNA 遺伝子領域の DNA 配列を PCR により増幅し、それぞれの生物の特徴を元に、菌の種類と量を決めていた。しかしながら、リボソーム RNA 遺伝子という既知の限られた配列のみからの判断されるため、誤差も大きく、新たな菌を発見できないという欠点があった。本研究で用いたナノポアによる解析は、より正確に菌種を決定できるため、口腔内環境の悪化・改善と関係する菌叢をより正確に把握できると考えた。まず、ボランティアの口腔内菌叢サンプルとして唾液、嗽、歯間の3種類のサンプルを得て解析手法を検討したところ、唾液と嗽サンプルの間には大きな差がなく、唾液 (嗽) と歯間サンプルの間には顕著な違いは見られるものの、どちらのサンプル取得方法を用いても、解析は可能であるとの結論を得た。同時に、これまでの解析方法と比べても、より多くの菌種が検出可能であることが明らかとなった。今回、新たに確立された本方法を用い、共同研究先である鶴見大学で得たドライマウス患者からのサンプルの解析を行ったところ、AMPH-B を含有する製剤による治療前には、口腔内環境の悪化に大きく関与するとされている病原性真菌のカンジダが多く検出される一方で、治療後はその菌の検出数が大幅に低下したことを確認した。このような病原性真菌はボランティアからは、非常に限られた数しか検出されなかった。加えて、AMPH-B を含有する製剤は細菌を除菌できないにも関わらず、いくつかの歯周病や口腔内環境悪化に関与すると指摘されている細菌が、カンジダの減少と同時に大きく減少していることが判明した。このことから、カンジダが口腔内悪化に関与する細菌叢の形成に大きく寄与しており、それを取り除くことで口腔内環境が改善することが明らかになった。さらに、今回の検討では、これまで口腔常在菌として知られていない菌も多数検出されていることから、口腔内環境決定に関与する新たな細菌種の発見も期待された。</p>			
今後の展開			
<p>AMPH-B を含有する製剤による口腔内環境の改善機序として、AMPH-B により口腔内の病原性真菌数が減少し、同時に AMPH-B には細菌に対しての殺菌作用がないにも関わらず、いくつかの悪玉細菌数を大幅に減らすことが明確に示され、その結果として口腔環境が改善するという機序が示唆できた。今後は、更なる臨床サンプルの解析を継続し、その結果をもとに、新たな口腔内改善薬を開発したいと考えている。</p>			