

- 20) Arumugam M, Raes J, Pelletier E *et al* : Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473 : 174-180, 2011
- 21) Wu GD, Chen J, Hoffmann C *et al* : Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 334 : 105-108, 2011
- 22) Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T *et al* : A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457 : 480-484, 2009
- 23) Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J *et al* : Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 500 : 541-546, 2013
- 24) Frank DN, St Amand AL, Feldman RA *et al* : Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 : 13780-13785, 2007
- 25) Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V *et al* : Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe* 16 : 444-453, 2010
- 26) Koren O, Spor A, Felin J *et al* : Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 : 4592-4598, 2011
- 27) Koenig JE, Spor A, Scalfone N *et al* : Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 : 4578-4585, 2011
- 28) Koren O, Goodrich JK, Cullender TC *et al* : Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* 150 : 470-480, 2012

ヒト常在菌叢のメタゲノム解析

Metagenomics of the human microbiome



メタゲノム、常在菌叢、細菌叢異常

人体には約1,000種の細菌(常在菌)が数百兆個生息している。常在菌の住処は口腔、皮膚、消化器系、泌尿器系など全身にわたり、それぞれの部位には固有の細菌集団(常在菌叢)が形成されている。この5~6年間に、培養に頼らないメタゲノム解析法の開発、網羅的な解析を可能にした次世代シーケンサー(NGS)の著しい進歩、国際コンソーシアムの始動などにより、大量データに基づいた包括的なヒト常在菌叢研究が大きく進展した。

● ヒト常在菌叢解析の全体プロセス

NGSを用いた腸内細菌(常在菌)叢解析の概略を図1に示す。①16S 遺伝子による菌種・菌種組成解析、②メタゲノムによる遺伝子解析、③分離培養された細菌株の個別ゲノム解析、の3つが柱となっている。

① **メタ16S解析**: 構成細菌種の16SrRNA 遺伝子の可変領域を共通PCRプライマーで一括増幅して得られた16S アンプリコンの配列データをNGSで取得する。16S 配列データは菌種特定や菌種組成(OTU解析)、細菌叢の系統樹間比較(UniFrac 距離解析)などの菌叢構造に関するデータ取得に用いる。菌叢構造は個人間や年齢、生息部位間で大きく異なるが、ヒト常在菌叢はおもに4つの門(Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria)に属する菌種で優占されている¹⁾。

② **疾患のメタ16S解析**: 疾患患者群の細菌叢は健康人群との比較において、その菌種組成や菌種数が有意に異なり、細菌叢異常(dysbiosis)を示す。関連する疾患は炎症性腸疾患、肥満、糖尿病、大腸癌、動脈硬化症、自閉症など全身にかかわる²⁾。これらのデータはこれまでの想像を超えて、腸内細菌叢が宿主の生理状態に大きく影響することを強く示唆する。さらに、細菌叢自体が疾患発症の直接要因であることが示され、一方で健康なヒト糞便が再発性の感染症の治療にきわめて有効であることも報告されている³⁾。

③ **メタゲノム解析**: 細菌叢DNAを直接NGSによりシーケンスして大量のゲノム配列を取得し、情報学的に同定された遺伝子配列をCOG(Clusters of Orthologous Groups)やKEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)などの遺伝子機能データベースに照会することで、細菌叢の機能や代謝系情報を収集する。今日では1つのプロジェクト(100被験者以上)で数百万のユ

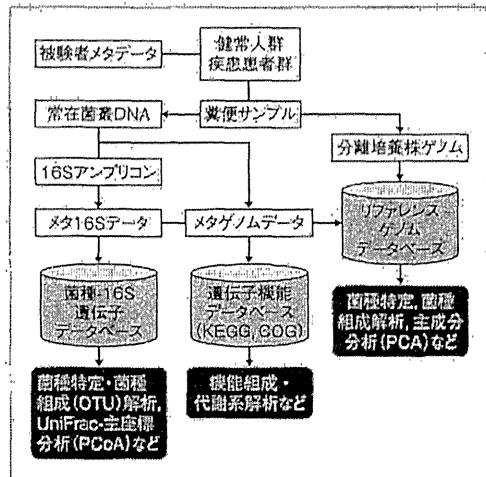


図1 ヒト腸内細菌叢マイクロバイオームの解析概略

ニーク遺伝子が同定可能となっている。これまでに解析された1,000名以上(日本人を含む)の腸内細菌叢サンプルからは、合計1,000万以上のユニーク遺伝子が同定されている(著者ら、未発表)。この遺伝子数はヒト遺伝子数をはるかに凌駕する。今日、食事や年齢、人種あるいは地域に相関する(特徴的な)遺伝子/機能・代謝系の大規模な解明が進められている。また、2型糖尿病ではヒト遺伝子よりも高い予測能・診断能がある細菌遺伝子や菌種マーカーがみついている⁴⁾。

④ **ヒト常在菌ゲノムデータベース**: 現在までに6,000株以上が分離され、そのゲノム配列がデータベース化されている(<http://www.hmpdacc.org/>)。このリファレンスゲノムは、メタ16Sやメタゲノムデータが由来する細菌種の特異性、定量的な高い菌種組成解析、健康-疾患細菌叢間の相違解明(主成分解析など)、細菌叢に特徴的な菌種や遺伝子の検出などに有効である。

- 1) Human Microbiome Project Consortium: *Nature*, 486: 207, 2012.
- 2) Clemente, J. C. et al.: *Cell*, 148: 1258, 2012.
- 3) van Nood, E. et al.: *N. Engl. J. Med.*, 368: 407, 2013.
- 4) Qin, J. et al.: *Nature*, 490: 55, 2012.

服部正平/東京大学大学院新領域創成科学研究科附属オーミクス情報センター

ゲノム(解析)学・細菌・ウイルス学

