

最近のトピックス

口腔内感染症関連細菌の新しい分類 New Taxonomic Positions of Oral Infectious Bacteria

新潟大学大学院医歯学総合研究科
口腔生命科学専攻口腔健康科学講座
口腔環境・感染防御学分野

中澤 太, 上松弘幸, 星野悦郎

Niigata University Graduate School of Medical and
Dental Science, Department of Oral Health Science,
Division of Oral Ecology in Health and Infection

Futoshi Nakazawa, Hiroyuki Uematsu, Etsuro Hoshino

1. はじめに:

細菌学の長い歴史を通して、細菌の分類や命名は、新しい知見や新しい手法の導入によって変遷を繰り返してきた。従来は、細菌学的性状（グラム染色性、形態、病原性、培養条件など）及び生化学的性状（糖分解性、産生酵素など）が最も基本的な分類基準であった。その後、発見される細菌種の増加に伴って、細菌細胞壁膜脂質やペプチドグリカンの構成成分や構造の相違などの化学的性状や血清学的性状も加えられて、その分類が進められてきた。1970年代中頃から、細菌のDNAを使った手法が本格的に導入され、ゲノムDNAのG+C含量比、DNA-DNAハイブリダイゼーション相溶性及び16S rRNA遺伝子塩基配列類似性などが、細菌の新しい分類基準として採用されてきた。

現在の細菌分類においては、表現形質と遺伝学的情報を組み合わせた多相分類が主流であるが、その中でも、16S rRNA遺伝子塩基配列類似性が最も優れた手法として決定的な役割を担っている¹⁾。その理由としては、1) 細菌の16S rRNAの進化速度が遅いため、細菌の進化論的類縁性を知ることができること、2) 全ての細菌が16S rRNAを保有していること、などがあげられる。しかし、細菌の16S rRNAの全長は僅か1,500bpであり、それは細菌の染色体DNAの約1/1,000程度に過ぎず、仮に16S rRNA遺伝子の塩基配列が100%一致したとしても、違う細菌種である可能性は否定できない（そのような場合には、全ゲノムDNAのDNA-DNAハイブリッド形成実験を行い、その相溶性を検討する必要がある）。

近年、9割以上の細菌種の16S rRNA遺伝子の塩基配列が解明されGenBankなどに蓄積されてきたことによ

って、その塩基配列の異なる新しい細菌種が多数報告されている。同時に、従来の細菌の分類も16S rRNA遺伝子の塩基配列類似性によって大きく見直され、再分類されてきた。

本稿では、ヒトの口腔内感染症に関連する細菌種として知られる幾つかの細菌群について、その分類学的変遷と16S rRNA遺伝子の塩基配列を主とした現在の新しい分類を概説する。

2. *Bacteroides forsythus*が*Tannerella forsythensis*に:

細菌分類学のバイブルとも言えるBergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984年発行)では、嫌気性多形性グラム陰性桿菌の*Bacteroides*属として50以上の菌種が列挙されていた。しかし、16S rRNA遺伝子の塩基配列の違いによってその多くが他の菌属に移され、現在では*B. fragilis*をtype speciesとして僅か14菌種が残っていた。

成人性歯周炎の歯肉縁下歯垢から分離された(1920年代)黒色コロニー形成性の*Bacteroides melaninogenicus*は、糖の分解の能力によって*B. melaninogenicus* subsp. *asaccharolyticus*, *B. melaninogenicus* subsp. *intermedius*, *B. melaninogenicus* subsp. *melaninogenicus*の3菌種に分類された(1970年代)。その後、C+G含量やDNA相溶性などによってこれらの細菌種は、*B. gingivalis* (*Bg*), *B. asaccharolyticus* (*Ba*), *B. endodontalis* (*Be*), *B. intermedius* (*Bi*), *B. corporis* (*Bc*), *B. denticola* (*Bd*), *B. loescheii* (*Bl*), *B. melaninogenicus* (*Bm*)の8菌種に再分類された。1980年代後半から、これらの菌種の16S rRNA遺伝子の塩基配列の解析が進み、その類縁性によって*Bg*, *Ba*, *Be*は*Porphyromonas*属に、*Bi*, *Bc*, *Bd*, *Bl*, *Bm*は*Prevotella*属にそれぞれ新しく分類され、現在では、Fig. 1のように確立している。

*Bacteroides forsythus*は、Tanner等によって歯周病患者の歯周ポケット深部から分離され*Bacteroides*属の新菌種として1986年に提唱された²⁾。

*Bacteroides forsythus*は、その16S rRNA遺伝子の塩基配列が*Porphyromonas*属、*Prevotella*属、*B. fragilis*と異なることが指摘されていたが³⁾、2002年Sakamoto等は、16S rRNA遺伝子の塩基配列の他、細胞壁膜脂質構成成分や酵素活性を明らかにし、*Tannerella forsythensis*として再分類した⁴⁾。Fig. 1は*Tannerella*属、*Porphyromonas*属、*Prevotella*属、*Bacteroides*属及びその近縁細菌の16S rRNA塩基配列による遺伝学的系統関係を示してい

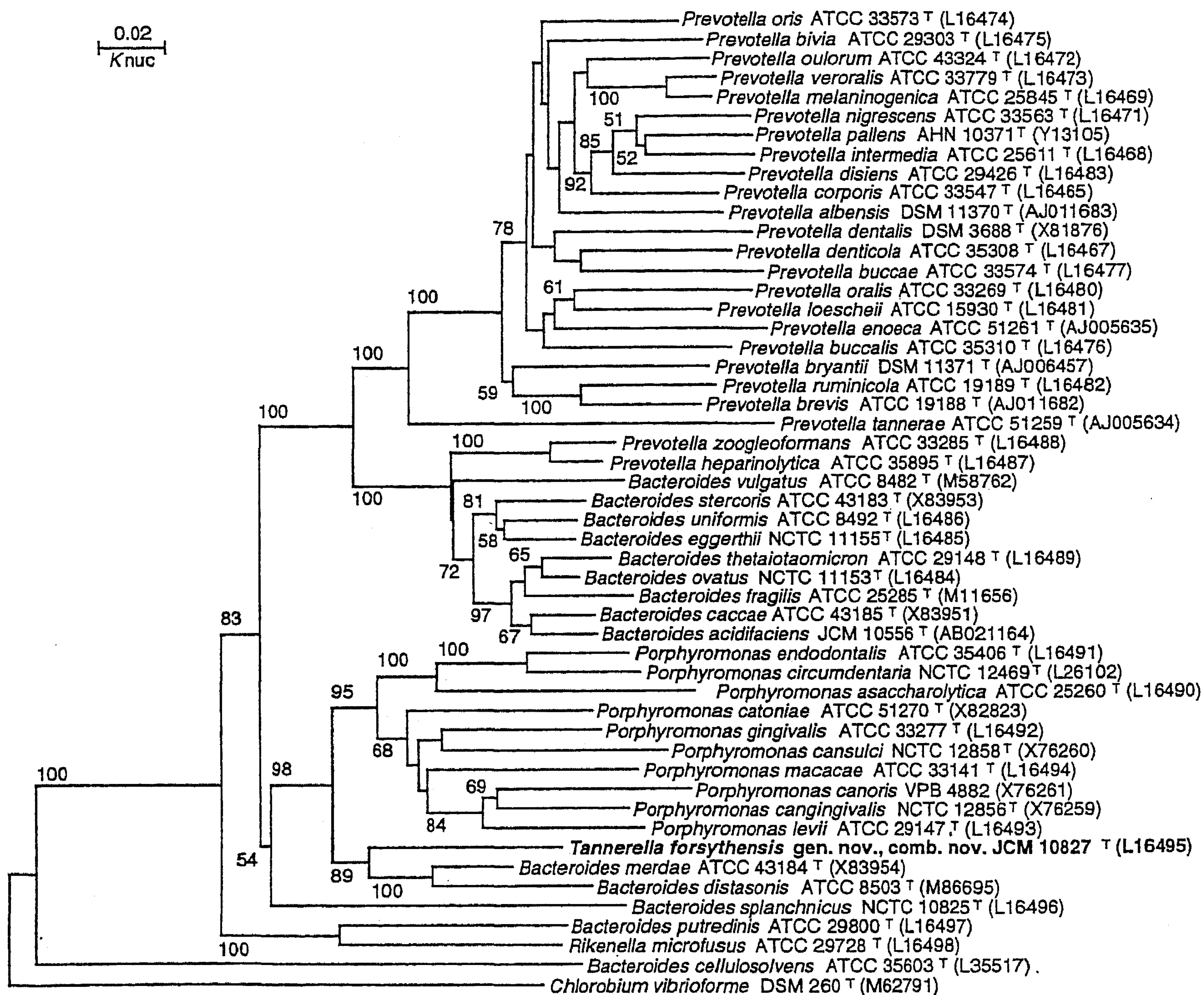


Fig. 1

る。この系統図から分かるように、今回提唱された *Tannerella forsythensis* と近縁にあり、*B. fragilis* とは遠縁にある *B. merdae*, *B. distasonis*, *B. putredinis*, *B. cellulosolvens* 等は、今後 *Bacteroides* 属から他の細菌属に移されると予想される。

3. *Streptococcus* 属の分類:

Streptococcus 属は、人に様々な疾患をおこさせる細菌種を含み臨床細菌学上重要な属であるが、溶血性及び Lancefield により確立された血清学的分類法を重要視する余り細菌学的、生化学的性状などによる分類や遺伝子レベルでの分類の見直しが著しく遅れていた。1980年代後半より、ようやく遺伝子レベルでの分類の再編成が始まり、新菌種、新属の提案を含む数多くの分類学的再編成がなされ、現在に至っている。

Streptococcus 属における分類上の最大の変更として

は *Enterococcus* 属⁵⁾ 及び *Lactococcus* 属⁶⁾ の新設である。即ち、根尖性歯周炎との関連が疑われ、高いアルカリ性条件や6.5%NaCl存在で生育可能な *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium* 等は *Enterococcus* 属に、糖を分解し多量の乳酸のみを産生する(乳酸ホモ発酵) *S. lactis*, *S. raffinolactis* 等は *Lactococcus* 属に移された。

また、命名時のラテン語誤用が放置されていた菌種について修正が加えられ、*S. crista* → *S. cristatus*, *S. rattus* → *S. rattii*, *S. sanguis* → *S. sanguinis*, *S. parasanguis* → *S. parasanguinis* とそれぞれ変更された(1997年)⁷⁾。

現在、*Streptococcus* 属の菌種は「乳酸を主要な終末代謝産物とするカタラーゼ陰性のグラム陽性球菌」と定義され、主要な *Streptococcus* 属細菌種は、主として16S rRNA 遺伝子の塩基配列によって、pyrogenic group, anginosus group, mutans group, mitis group, salivarius group, bovis group の6に分類されている。

Table 1 : *Streptococcus*属全菌種

現在のグループ名	現在の菌種名	旧名、通称名（非承認）等
pyogenic group	<i>S. pyogenes</i>	Group A streptococci
	<i>S. agalactiae</i>	Group B streptococci
	<i>S. equi subsp. equi</i>	
	<i>S. equi subsp. zooepidemicus</i>	
	<i>S. dysgalactiae subsp. dysgalactiae</i>	
	<i>S. dysgalactiae subsp. equismilis</i>	
	<i>S. canis</i>	
	<i>S. iniae</i>	<i>S. shiloi</i>
	<i>S. porcinus</i>	
	<i>S. uberis</i>	
	<i>S. parauberis</i>	<i>S. uberis</i> -2
	<i>S. intestinalis</i>	
	<i>S. hyointestinalis</i>	
	<i>S. phocae</i>	
anginosus group	<i>S. anginosus</i>	milleri group
	<i>S. constellatus</i>	milleri group, <i>S. anginosus</i> -constellatus
	<i>S. intermedius</i>	milleri group, <i>S. MG</i> -intermedius
mutans group	<i>S. mutans</i>	
	<i>S. rattii</i>	<i>S. mutans</i> subsp. <i>rattus</i>
	<i>S. sobrinus</i>	<i>S. mutans</i> subsp. <i>sobrinus</i>
	<i>S. ferus</i>	<i>S. mutans</i> subsp. <i>Ferus</i>
	<i>S. cricetus</i>	<i>S. mutans</i> subsp. <i>cricetus</i>
	<i>S. downei</i>	<i>S. mutans</i> serotype h
	<i>S. macacae</i>	
mitis group	<i>S. mitis</i>	<i>S. mitior</i>
	<i>S. oralis</i>	<i>S. mitior</i> , <i>S. sanguis</i> II、Biotype B-serotype II
	<i>S. pneumoniae</i>	
	<i>S. gordonii</i>	<i>S. sanguis</i> I、Biotype A-serotype III
	<i>S. cristatus</i>	tufted fibrils
	<i>S. sanguinis</i>	<i>S. sanguis</i> I、Biotype A-serotype I
	<i>S. parasanguinis</i>	
	<i>S. infantis</i>	
salivarius group	<i>S. peroris</i>	
	<i>S. salivarius</i>	
	<i>S. thermophilus</i>	
bovis group	<i>S. vestibularis</i>	
	<i>S. bovis</i>	
	<i>S. equinus</i>	
	<i>S. alactolyticus</i>	
	<i>S. gallolyticus</i>	<i>S. caprinus</i>

Table 1 にはそれぞれのgroupに属する現在の細菌種の分類と、旧分類による名称を対比して示してある。

1) mitis groupの分類学的変遷

このグループには*S. pneumoniae*を含むα溶血性7菌種が含まれる。Bergey's Manual of Systematic Bacteriologyでは*S. pneumoniae*はpyogenic groupに含まれていたが、16S rRNAによる系統解析で明らかにmitis groupに含まれることが示された。また*S. pneumoniae*はDNA-DNA hybridization法でも*S. mitis*, *S. oralis*と非常に近縁な関係を示すことがわかっている。

1980年のApproved list of bacterial nameにはmitis groupのメンバーとしては、*S. mitis*, *S. pneumoniae*, *S. sanguinis*の3菌種のみが記載されている。その後1982年⁸⁾に*S. oralis*が提案された。また1989年⁹⁾, 1991年¹⁰⁾には*S. gordonii*, *S. cristatus*がそれぞれ*S. sanguinis*から独立し、1990年¹¹⁾には*S. parasanguinis*が提案された。更に1998年に16S rRNA塩基配列の相違によって*S.*

infantis, *S. peroris*の2菌種が確立¹²⁾した。

*S. mitis*は通常使われる発酵、加水分解試験で陽性となる項目が少なく、表現形質による鑑別が難しい菌種であった。そこに新たな菌種が追加されたため、相互の鑑別がほとんどできない、あるいは記載された性状に一致しない菌株多数見いだされた。遺伝学的にもmitis groupの各菌種はお互い非常に近縁であり、相互の鑑別が非常に難しいということがわかった。さらに1989年には*S. mitis*の当時の基準株(NCTC 3165)の表現形質がもともとの菌種の記載と異なることから基準株の変更の提案が出され、1993年に正式に基準株が変更になった(新基準株はNCTC 12261)。それまで使われていた基準株が別菌種(NCTC 3165は現在の*S. gordonii*に属する)であったため、その分類同定の混乱に拍車をかけてしまったという歴史的経緯もある。

2) anginosus groupの分類学的変遷

このグループの*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S.*

*intermedius*の3菌種は1987年に、DNA-DNA相同性に差がないことから1菌種に統合され¹³⁾、1991年に再び3菌種に分けられた¹⁴⁾経緯がある。またこのグループは、ヨーロッパ諸国ではmilleri groupという名称が一般的であったが、1996年国際微生物命名委員会でanginosus groupとすることが正式採用され現在に至っている。

現在このグループには3菌種が含まれているが、近年16S rRNA塩基配列が異なり、そのいずれにも属さない菌株も報告されている¹⁵⁾ことから、今後このグループには、菌種または亜菌種の新しい提案がなされることが予想される。

4. *Dialister pneumosintes*:

1921年にOlitsky, Gatesによって鼻咽喉から分離され、当初*Bacterium pneumosintes*と名付けられた¹⁶⁾。その後1923年に属名が*Dialister*に変更された。1970年代には*Bacteroides*属に分類され、Bergey's Manual of Systematic Bacteriologyには*Bacteroides pneumosintes*として記載されている。1994年にMooreらの菌体構成脂肪酸の分析から、*Dialister pneumosintes* (名称の意味は *Dialister* = unknown, *pneumosintes* = breath destroying) と属名が変更になった¹⁷⁾。

この細菌種は偏性嫌気性、非運動性、非芽胞性、グラム陰性桿菌 (0.2-0.4 X 0.3-0.6 μ m) で糖を分解しない。血液平板でのコロニーは、円形、スムーズ、透明である。カタラーゼ、インドール、硝酸塩還元は全て陰性を示す。終末代謝産物として、PYG (ペプトン・イーストエキストラクト・グルコース) 液体培地から、酢酸、プロピオン酸、乳酸をそれぞれわずかに産生する。

ヒトの歯肉溝、咽頭、感染根管¹⁸⁾からも分離されるが、特に重度歯周疾患の病巣から極めて高い頻度で検出されること¹⁹⁾、またその病巣において、*Tannerella forsythensis* (旧名称*Bacteroides forsythus*) と会合して分布していること²⁰⁾などから、近年、歯周疾患の重要な関連細菌として注目されている。

参考文献

- 1) Woese, C. R. Microbiol. Rev., 51 : 221-271. 1987.
- 2) Tanner, A. C. R. et al. Int. J. Syst. Bacteriol., 36 : 213-221. 1986.
- 3) Paster, B. J. et al. J. Bacteriol., 176 : 725-732. 1994.
- 4) Sakamoto, M. et al. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52 : 841-849. 2002.
- 5) Schleifer, K. H. et al., Int. J. Syst. Bacteriol., 34 : 31-34. 1984.
- 6) Schleifer, K. H. et al., Syst. Appl. Microbiol., 6 : 183-195. 1985.
- 7) Truper, H. G. and Clari, L. D. Int. J. Syst. Bacteriol., 47 : 908-909. 1997.
- 8) Bridge, P. D. et al. Int. J. Syst. Bacteriol., 32 : 410-415. 1982.
- 9) Handley, P. et al., Int. J. Syst. Bacteriol., 41 : 543-547. 1991.
- 10) Loseche, W. J. Microbiol. Rev., 50 : 355-380. 1986.
- 11) Whiley, R. A. et al., FEMS Microbiol. Lett., 68 : 115-122. 1990.
- 12) Kawamura, Y. et al., Int. J. Syst. Bacteriol., 48 : 921-927. 1998.
- 13) Coykendall, A. L. et al., Int. J. Syst. Bacteriol., 37 : 222-228. 1987.
- 14) Whiley, R. A. and Beighton, D. Int. J. Syst. Bacteriol., 41 : 1-5. 1991.
- 15) Whiley, R. et al., Int. J. Syst. Bacteriol., 47 : 645-650. 1997.
- 16) Olitsky, P. and Gates, F. J. Exp. Med., 33 : 713-729. 1921.
- 17) Moore, L. V. H. and Moore W. E. C. Int. J. Syst. Bacteriol., 44 : 187-192. 1994.
- 18) Tani-Ishii, N. et al., Oral Microbiol. Immunol., 9 : 129-135. 1994.
- 19) Contreas, A. et al., Oral Microbiol. Immunol., 15 : 269-272. 2000.
- 20) Ghayoumi, N. et al., J. Periodont. Res., 37 : 75-78. 2002.