

論文の内容の要旨

氏名：鈴木 到

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Role of SCFAs for fimbriin-dependent biofilm formation of *Actinomyces oris* and regulation of *SMU. 940* for dextran-dependent aggregation and biofilm formation in *Streptococcus mutans*

(*Actinomyces oris* の fimbriin 依存的なバイオフィーム形成における SCFAs の役割と *Streptococcus mutans* のデキストラン依存的な凝集およびバイオフィーム形成における *SMU. 940* 遺伝子による制御)

細菌の初期付着は、歯面上における口腔バイオフィーム形成中で他の細菌との凝集や相互関係に重要な役割を果たす。*Actinomyces oris* (*A. oris*) は初期付着菌としてよく知られ、口腔内の他の細菌と相互作用する。*A. oris* は細胞表面に I 型および II 型線毛を持つ。II 型線毛は共凝集やバイオフィーム形成に関係し、shaft fimbriin である FimA と tip fimbriin である FimB で構成される。短鎖脂肪酸 (SCFAs) は *Porphyromonas gingivalis* や *Fusobacterium nucleatum* を含む多くの口腔細菌の代謝産物であり、歯垢中や歯周ポケットから高濃度の酪酸およびプロピオン酸などが検出された。過去の報告から、96 穴のマイクロタイタープレートにおいて、6.25 mM の酪酸が *Actinomyces neslundii* X600 株のバイオフィーム形成を増加させ、バイオフィーム細胞の SDS-PAGE とウェスタンブロッティングにより、熱ショックタンパクである GroEL が関係していることが報告された。他の報告では、60 mM の酪酸はフローセルシステムにおける *A. naeslundii* X600 株のバイオフィーム形成を増加させ、また 6 穴培養プレートにおける *A. naeslundii* X600 株の初期付着を増加させることが証明された。これらの報告は、酪酸がバイオフィーム形成における細菌の潜在的な能力を促進させることが考えられた。しかしながら、*A. oris* の FimA 依存的なバイオフィーム形成における外因性 SCFAs の影響はあまり報告されていない。本研究において、96 穴および 6 穴マイクロタイタープレートとフローセルシステムにおける FimA 依存的なバイオフィーム形成の SCFAs の影響を明らかにするために、*A. oris* MG1 株と MG1 Δ *fimA* 株を用いた 2 つのタイプのバイオフィーム形成実験を行った。増殖における代謝産物が除外されない唾液コートした 96 穴および 6 穴マイクロタイタープレートにおいて、SCFAs は *A. oris* MG1 株と MG1 Δ *fimA* 株の 6 時間および 16 時間バイオフィーム形成を誘導しなかった。しかしながら、増殖間の代謝産物が除外されたフローセルシステムにおいて、6.25 mM 酪酸と 3.125 mM プロピオン酸は FimA 依存的なバイオフィーム形成と細胞死を誘導した。増殖における代謝産物はバイオフィーム形成において SCFAs の影響を妨げることが考えられた。*A. oris* のバイオフィーム形成における SCFAs の本来の影響は FimA 依存的なバイオフィーム形成の誘導であるが、菌の増殖により生じる代謝産物はその影響を妨げると考えられた。このことから、SCFAs は *A. oris* のバイオフィーム形成において重要な役割を果たすことが明らかとなった。

一方、口腔細菌である *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) は齲蝕の原因となる物質の一つであるグラム陽性菌である。*S. mutans* の病原性は、高い酸産生や耐酸性能、様々な炭素源の取り込みのための高い親和性システム、菌体外多糖形成能であり、バイオフィーム形成と密接に関係している。*S. mutans* によるバイオフィーム形成はスクロースが存在する環境下の歯面において、細菌の付着、凝集、グルカン形成により促進される。表面関連グルカン結合タンパク (Gbps) もまた凝集やバイオフィーム形成、グルカンへの結合に関係し、従ってプラーク形成の促進や *S. mutans* の齲蝕原性に寄与する。グルカン結合タンパクの一つである GbpC は *S. mutans* の中で最も重要な Gbp であり、齲蝕原性に直接的に寄与すると考えられる。また、GbpC 欠損株はバイオフィーム形成を減少させ、バイオフィームの構造は親株の構造と明らかに異なっていることが報告されている。過去の報告から、臨床分離株のマイクロアレイ分析において、*S. mutans* のバイオフィーム形態に関係する 74 個の遺伝子が明らかにされた。しかしながら、*S. mutans* のバイオフィーム形成におけるこれらの遺伝子のほとんど全ての役割については理解が乏しい。本研究において、*S. mutans* のバイオフィーム形成や凝集における *SMU. 940* の役割を明らかにするために、*S. mutans* UA159 株における *SMU. 940* 遺伝子および *gbpC* 遺伝子の変異株を用いてバイオフィーム形成実験や凝集実験を行った。*S. mutans* の *SMU. 940* 遺伝子変異株は、0.25% グルコース添加 TSB 培地における急速なデキストラン依存的な凝集とバイオフィーム形成を促進し、0.25% スクロース添加 TSB 培地においてはバイオフィーム形成をわ

ずかに減少させた。*S. mutans* のデキストラン依存的な凝集に関係していると報告されている *gbpC* の変異株は *SMU. 940* 変異株のデキストラン依存的な凝集を完全に排除した。このことから、*SMU. 940* 遺伝子は、*S. mutans* のデキストラン依存的な凝集やバイオフィーム形成の制御に寄与することが明らかとなった。