

論文審査の結果の要旨

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 fimbrillin-dependent biofilm formation of *Actinomyces oris* and regulation of *SMU. 940* for dextran-dependent aggregation and biofilm formation in *Streptococcus mutans*

（*Actinomyces oris* の fimbrillin 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）

審査委員： （主 査） 教授 落合 智子
 （副 査） 教授 平塚 浩一
 教授 清水 武彦

歯面上における細菌の初期付着は、口腔バイオフィーム形成において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知られ、口腔内の他の細菌と相互作用する。*A. oris* は菌体表面に 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 fimbrillin である FimA と tip fimbrillin 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、歯垢や歯周ポケット内からも高濃度の酪酸およびプロピオン酸などが検出される。過去の報告において、酪酸が *Actinomyces neslundii* の初期付着やバイオフィーム形成を増加させることが示され、酪酸が細菌のバイオフィーム形成能を促進させる可能性が示唆されている。しかし、*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 の影響の報告は少ない。

本研究では、FimA 依存的なバイオフィーム形成における SCFAs の影響を明らかにするために、*A. oris* MG1 株と FimA 欠損株である MG1 Δ *fimA* 株を用いてバイオフィーム形成実験を行い比較した。増殖により産生される代謝産物が除外されない条件下では、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、増殖による代謝産物が除外される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。これらの結果から、*A. oris* のバイオフィーム形成において SCFAs は FimA 依存的なバイオフィーム形成の誘導し、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。

口腔細菌である *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) は齶蝕原性を有するグラム陽性菌である。*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 (Gbp) は凝集やバイオフィーム形成、グルカンへの結合に関係し、*S. mutans* の齶蝕原性に寄与する。グルカン結合タンパクの一つである GbpC は *S. mutans* の重要な Gbp であり、齶蝕原性に直接的に関与すると考えられている。GbpC 欠損株ではバイオフィーム形成が減少し、構造が異なっていることが報告された。過去の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成に関与する 74 遺伝子が報告された。しかし、*S. mutans* のバイオフィーム形成におけるこれらの遺伝子の役割については理解が乏しい。

本研究では、これら 74 遺伝子中の *SMU. 940* 遺伝子の *S. mutans* の凝集やバイオフィーム形成における役割を明らかにするために、*S. mutans* UA159 株における *SMU. 940* および *gbpC* 遺伝子変異株を用い、バイオフィーム形成実験および凝集実験を行った。*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される *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。これらの結果から、*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関与することが示された。

以上より、*A. oris* のバイオフィルム形成において、SCFAs は FimA 依存的なバイオフィルム形成を誘導することが明らかとなった。また、*S. mutans* の *SMU. 940* 遺伝子は、デキストラン依存的な凝集やバイオフィルム形成の制御に関与することが明らかとなった。本研究で得られた知見は、口腔バイオフィルム形成のメカニズムを明らかにし、齲蝕や歯周病の新たな予防法の開発の一助になると考えられ、小児歯科臨床の発展に大きく寄与し、今後一層の発展が望めるものである。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成31年2月21日

