

論文の内容の要旨

氏名：久保田 順子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：カンジダ菌種の研究：殊に同定法の評価と検出に影響を与える臨床的要因について

(Studies of *Candida* spp.: especially on evaluation of identification method and clinical factors affecting the detection)

カンジダは子囊菌系のなかでも 200 菌種以上が存在する大きい属であり、成人、小児を含む健常者の 25-50%の口腔内に見られる。義歯装着者に限定した場合、その頻度は 60-100%に増加する。中でも *Candida albicans* は最も頻度が高く分離される種であり、カンジダ感染症の約 70 %を占める。一方、non-*albicans Candida* は、その検出率が増えてきており、ヒトへの感染における新たな役割に関心が集まっている。それらの変化の理由としては、医療技術の進歩や宿主側である人の全身状態および生活習慣が関連してくると思われる。しかし、要因解析に関する報告は少ない。

CHROMagar™ *Candida* (関東化学, 東京, 日本)は非常に有用な培地で、口腔検体から分離されるほぼ 90 %を占める *C. albicans*, *C. tropicalis*, *Pichia kudriavzevii*, *C. glabrata* を識別する。しかしながら、混合感染からのカンジダ菌種の識別精度に関する検討は乏しい。すなわち、混合感染を伴う様々な基礎疾患を有する患者における CHROMagar™ *Candida* による同定精度に関するエビデンスは不十分である。マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法のなかでもイオンの飛行時間を用いるマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法 (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight-Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS) を用いた新しい微生物同定法が開発され、細菌菌種の同定が治療法に直接関与する医学臨床分野や食品製造分野での応用が先行したが、カンジダ菌種の識別に関する報告は非常に少ない。第一章の研究の目的は、高齢義歯装着者を対象に CHROMagar™ *Candida* 培養試験法と MALDI-TOF MS のカンジダ混合感染における菌種同定識別精度を比較し、カンジダ分布状況について検討することである。そして第二章では、第一章で明らかにした *Candida* 菌種と宿主側の全身および局所因子との関連性を調査することである。

研究対象者は外来受診可能、義歯の自己管理、在宅で自立生活を行う 89 名の義歯装着者 (平均年齢 74.0 ± 9 歳) とした。除外基準は、全身状態として a)認知症, b)カンジダ感染に影響する薬剤の使用, d) 義歯未装着者, e)必要とされるデータが不足している者とした。検体は、患者の義歯床粘膜面および舌背を滅菌精製水に浸した綿棒で 10 回擦過して採取し、直ちにカンジダ識別用選択培地 CHROMagar™ *Candida* (CHROMagar™ *Candida*, 関東化学, 東京, 日) 上に接種し、その後 MALDI-TOF MS (BD Burkler MALDI Biotyper™, 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)による分析を行なった。そして、カンジダ菌種の分布頻度の分析を行なった。第 2 章では第 1 章で得られた義歯床粘膜面の結果から *Candida* (+)群と *Candida* (-)群の 2 群に、さらに *Candida* (+)群を *Candida albicans* 群, non-*albicans Candida* 群に分類した。そして、被検者の口腔内環境として舌背のカンジダ同定、口腔粘膜湿度および唾液 pH, 全身状態として既往歴および服薬状況、また生活習慣として使用中の義歯管理状況の調査を行った。さらに、これらの臨床要因と各群の関連について統計学的解析を行った。

第一章の結果は、カンジダ属の MALDI-TOF MS による検出/非検出の数と率は、それぞれ、58/31 (65.2%/34.8%)であった。その感染形態は、単独感染 34 名 (38.2%), 混合感染 24 名 (27.0%), 非感染 31 名 (34.8%)であった。単独感染については、*C. albicans* が最も多く (58.8%), 次いで *C. parapsilosis* (17.6%), *C. glabrata* (14.7%), *C. tropicalis* (5.9%), *Pichia kudriavzevii* (2.9%) の順であった。混合感染については、最も頻度の高い組み合わせが、*C. albicans* と *C. glabrata* (50.0%) であり、次いで *C. albicans* と *C. parapsilosis* (29.2%), *C. albicans* と *C. tropicalis* (8.3%), *C. glabrata* と *C. tropicalis* (4.2%), *C. albicans* と *C. glabrata* と *C. parapsilosis* (4.2%), *C. albicans* と *C. parapsilosis* と *C. glabrata* (4.2%) の順であった。培養試験法では陰性だが、MALDI-TOF MS で陽性であった症例が 4 例存在した。逆に、培養試験法では陽性だが MALDI-TOF MS で陰性であった症例は 6 例存在した。カンジダ属について両方法の一致率は、0.64 (0.53-0.76)であり、一致を認めた。

第二章の結果は、性別および年齢、口腔水分量、既往歴および服用薬剤においては各群ともに有意差はみられなかった。唾液 pH は、*Candida* (+)群において有意に低く、*Candida albicans* 群ではさらに低値であ

った。口腔常在菌としての舌カンジダ属の存在や菌種は、義歯からのカンジダ属と関連していた。義歯からのカンジダ属の検出の有無は、義歯管理状況、義歯適合の良否、デンチャープラークの有無が、*Candida albicans* 群か non-*albicans Candida* 群かについては、義歯管理状況が関連因子であった。

本研究の結論は以下の通りである。

- 1) MALDI-TOF MS による義歯床粘膜面から検出されたカンジダ属は単独感染 38.2%、混合感染 27.0%であった。
- 2) CHROMagar™ *Candida* 培養試験法と MALDI-TOF MS 間のカッパ係数は 0.64 (0.53-0.76)であり、この2つの方法は一致が認められた。
- 3) 義歯 *Candida* (+)群の唾液 pH は、義歯 *Candida* (-)群に比して有意に低値であった。
- 4) 舌背と義歯床粘膜面からのカンジダ分布には有意な関連性が認められた。
- 5) 義歯床粘膜面のカンジダ分布は、義歯管理状況（はずした義歯の管理、義歯洗浄剤の使用、義歯の使用期間）が有意に関連していた。
- 6) 義歯床粘膜面のカンジダ分布は、義歯の状態（義歯の適合、デンチャープラークの有無）が有意に関連していた。

本研究では、MALDI-TOF MS の non-*albicans Ca* や混合感染の増加に伴うカンジダ菌種同定への応用価値が示された。また、カンジダ属感染に関わる要因として唾液 pH、舌 *Candida* 検出および義歯管理状況に有意差が認められた。