

論文審査の結果の要旨

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)

審査委員：(主査) 教授 河相安彦
(副査) 教授 小宮正道
教授 久山佳代

カンジダ感染症において最も頻度が高く分離される種は、1980年代は、*Candida* (*C.*) *albicans* が約70%を占めると報告されていた。しかし、1990年代に入ると *Candida* 菌種分布に大きな変化が現れ、non-*albicans Candida* の比率が徐々に上昇し、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、宿主側であるヒトの全身状態および生活習慣が関連していると思われる。しかし、その要因を解析した報告は少ない。

CHROMagar™ *Candida* 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と言える。混合感染の同定に関し、新たに微生物同定法として開発されたマトリ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) の応用が期待できるが、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、カンジダ菌種の識別に関する報告は非常に少ない。

そこで、第一章の研究目的は、高齢者を対象に CHROMagar™ *Candida* 培養試験法と MALDI-TOF MS (BD Burkert MALDI Biotyper™, 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) 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、義歯床粘膜面の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。

研究対象者は外来の受診が可能で、義歯の自己管理、在宅で自立した生活を営む89名の義歯装着者（平均年齢74.0±9歳）とした。除外基準は、a) 認知症の症状を認める者、b) 免疫抑制療法や化学療法受療中の者、局所状態として c) 抗真菌薬や殺菌性洗口液の使用者、d) 義歯未装着者とした。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*, 関東化学, 東京, 日本) 上に接種し、その後 MALDI-TOF MS による分析を行い、カンジダ菌種の分布状況の解析を行なった。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、被検者基本情報として年齢、既往歴および服薬状況、口腔内環境として口腔粘膜湿度、唾液 pH、舌背からのカンジダ菌種分布状況、義歯の管理状況および状態の調査を行った。そして、これらの要因と各群の関連性について解析を行った結果、本論文の著者は以下の結果を得ている。

第一章の結果、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 %) および混合感染24名 (27.0 %) 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. glabrata* と *C. tropicalis* (8.3 %), *C. albicans* と *C. glabrata* と *C. parapsilosis* (8.3 %), *C. albicans* と *C. tropicalis* (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5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、義歯床粘膜面からのカンジダ分布と年齢、口腔粘膜湿度、既往歴および服用薬剤との間に有意な関連性は認められなかった。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、義歯床粘膜面から検出されたカンジダ属と有意な関連性が認められた。義歯床粘膜面からのカンジダ属は、義歯の管理状況（はずした義歯の管理、義歯洗浄剤の使用、義歯の使用期間）と義歯の状態（義歯の適合、デンチャーブラークの有無）と有意な関連性がみられた。

以上から、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、デンチャーブラークの有無）が有意に関連していた。

本研究では、MALDI-TOF MS は混合感染が増加している今日の新しい微生物同定法として有用であり、また、義歯床粘膜面からのカンジダ属の検出は、唾液 pH、舌背のカンジダ分布状況、義歯の管理状況や状態との有意な関連性を認めている。本研究の結果は、真菌感染症の診断精度向上と病態解明に大きな示唆を与えるものであり、感染症病理学のさらなる発展も期待される。

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

令和3年1月21日