

口腔カンジダ症患者における真菌叢の網羅的解析： Internal transcribed spacer/ITS 領域を用いた新 たな診断法の試み

家田, 晋輔

<https://hdl.handle.net/2324/1441161>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（歯学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

論文題目 口腔カンジダ症患者における真菌叢の網羅的解析
- Internal transcribed spacer (ITS) 領域を用いた
新たな診断法の試み -

氏名 家田 晋 輔

論文内容の要旨

口腔カンジダ症の原因真菌は、主に *Candida (C.) albicans* と考えられてきたが、近年他の真菌の関与も指摘され、真菌叢の多様性が報告されている。従来真菌叢の同定には CHROMagar candida 培地を用いた方法が一般的に用いられてきたが、既知の主な真菌 5 種類のみしか同定できず、さらに菌種により培地上での成長速度が異なることから、正確な真菌叢の把握は困難であった。しかし近年、ほぼ全ての真菌に存在する ribosomal RNA の internal transcribed spacer (ITS) 領域 (ITS1-5.8S-ITS2 領域) の断片長多型を利用した length heterogeneity PCR (LH-PCR) 法が開発され、培養を必要とせずに迅速・簡便に解析できることが可能となった。そこで本研究ではまず第 1 に、この LH-PCR 法を用いて口腔カンジダ症患者における真菌叢の網羅的解析を行い、未同定の真菌についてはクローニングをした後にシーケンス解析を行った。また、口腔カンジダ症の治療として通常抗真菌薬が使用されるが、一部では治療抵抗性の症例も認められる。そこで第 2 に、口腔カンジダ症患者の治療抵抗性因子を見いだすために、臨床所見および口腔内真菌叢と治療抵抗性 (治療期間) との関連についても検索を行った。以下に本研究で得られた結果をまとめた。

1. LH-PCR 法を用いた口腔内真菌叢の検討

口腔カンジダ症患者 64 例および健常者 30 例を対象とし、各群の含嗽液中の真菌叢を LH-PCR 法にて網羅的に解析した結果、患者群からは 47 種の PCR 産物 (シグナル) が検出され、1 人あたりの検出されたシグナルは 7.4 ± 2.8 種であった。一方、健常者群からは 25 種のシグナルが検出され、1 人あたりの検出されたシグナルは 6.3 ± 2.1 種であり、患者群が有意に多かった。本研究で検出されたシグナルのうち、既知の真菌は 12 菌種、未同定のシグナルは 49 種であり、抗真菌薬の治療により症状が改善すると、患者群のシグナル数も減少した。真菌叢の構成比は、両群とも *C. albicans* が最も優勢であったが、患者群で構成比が高くかつ治療によりほぼ消失した菌種として、*C. dubliniensis* を認めた。また、未同定のシグナルについては、シーケンス解析にて新たに 16 菌種の真菌を同定した。

2. 口腔カンジダ症の治療抵抗性因子の検討

口腔カンジダ症の治療抵抗性因子を特定するために、臨床所見 (年齢、性差、唾液分泌量、病変部位) および口腔内真菌叢 (検出菌数、総真菌量、真菌の構成比) と治療期間との関連について検討を行った。臨床所見における検討では、年齢、性差、刺激時唾液分泌

量、および病変部位は治療期間と有意な相関は認めなかったものの、安静時唾液分泌量のみ治療期間と負の相関を示した。真菌叢における検討では、総真菌量および *C. albicans* は治療期間と有意な相関は認めなかったものの、検出菌数と *C. dubliniensis* の構成比は治療期間と正の相関を認めた。

本研究の結果から、口腔カンジダ症患者の病原性真菌は *C. albicans* だけではなく、治療期間と正の相関を示した *C. dubliniensis* の可能性が考えられる。また、総真菌量および検出菌数も患者群で多く、治療期間とも負の相関を認めることから、口腔カンジダ症の発症には「真菌叢の多様性」が関与していることが推察される。さらに、口腔カンジダ症の治療抵抗性の因子として、唾液分泌量の低下や *C. dubliniensis* の増加が考えられることから、口腔カンジダ症の治療にはドライマウスの治療も重要であり、さらに LH-PCR 法は口腔カンジダ症の診断および治療の指標に有用であることが示唆された。

