九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

う蝕を発症しにくい口腔微生物叢育成の鍵となる細菌種の探索

安永，遥菜

https://hdl.handle.net/2324/1654766

出版情報：九州大学，2015，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）

氏　　名　：安永　遥菜

論 文 名　：う蝕を発症しにくい口腔微生物叢育成の鍵となる細菌種の探索

区　　分　：甲

論　文　内　容　の　要　旨

う蝕の原因は唾液に浸された歯面に形成されるデンタルプラークであり、様々な口腔常在細菌がその形成と進行に複雑に関与する。本研究ではう蝕を発症しにくい口腔常在微生物叢の特定を目指し、う蝕経験の少ない成人の唾液に特徴的な細菌種を探索した。まず九州大学歯学部の学生19名 (20-28才) を対象とし、唾液中の細菌構成を16S rRNA遺伝子バーコードパイロシーケンス法を用いて解析した。う蝕経験を持たないう蝕未経験群9名と多数のう蝕経験歯 (9歯以上) をもつう蝕多発群10名とで比較したところ、う蝕未経験群の細菌叢はより複雑で、両群の細菌構成が異なることが示唆された。唾液を構成する47の細菌属のうち8菌属の構成比率に両群で違いが認められたが、特に*Porphyromonas* 属の構成比率はう蝕未経験群において有意に高いことが明らかとなった。本研究で検出された190のOTUのうち*Porphyromonas* 属の菌種に相当するものは4OTUであり、その代表配列はそれぞれ*Porphyromonas* sp. oral taxon (OT)-275、*Porphyromonas* sp. OT-279、*Porphyromonas* sp. OT-284、*P. gingivalis*に相当するものであった。これらのOTUのなかでは*Porphyromonas* sp. OT-279に該当するOTUが唾液細菌叢で最も優勢であり、う蝕多発群に比べう蝕未経験群で有意に高いことが明らかになった ($P < 0.001$, Wilcoxon 順位和検定)。本教室では最近、*Porphyromonas* sp. oral clone OT-279を分離・培養し、*P. pasteri*と命名した。本研究ではリアルタイムPCR法を用いた本菌種の定量系を作成し、より大規模な集団において本菌とう蝕経験の少ない者の唾液細菌叢との関連の確認を試みた。久山町在住の40-59歳の口腔が健康な成人139名の唾液細菌叢について*P. pasteri*およびう蝕との強い関連が知られる*S. mutans*と唾液中の総細菌数の測定を行ったところ、う蝕経験歯数の少ない被験者 (処置歯15歯未満、67名) では多数のう蝕経験歯をもつ被験者 (処置歯15歯以上、72名) に比べ有意に高かった ($P < 0.001$, Studentのt検定)。一方、*S. mutans*、総菌数は両群に違いは認められなかった。さらに、本研究では*Porphyromonas*属の構成比率の測定に基づいたう蝕の罹患しやすさを評価する簡便な検査法の確立を目指し、HOPE法を用いた口腔常在細菌属の構成比率測定法の開発を行った。主要な口腔細菌5菌属 (*Streptococcus, Porphyromonas, Neisseria, Gemella, Fusobacterium*) に特異的な配列をプローブとして設計し、それぞれの代表菌種から抽出したゲノムDNAを用いて識別可能なピークが得られることを確認した。さらにバーコードパイロシーケンス法による解析を行った19名の被験者の唾液についてHOPE法を用いて上記5菌属の構成比率を測定したところ、バーコードパイロシーケンス法による解析結果と高い相関 (相関係数 $r = 0.61$、0.96、0.94、0.50、0.91) を示し、HOPE法による各菌属の相対的定量が可能であることが示された。

本研究は、多くの人の唾液細菌叢において高い比率を占めるにもかかわらずこれまで注目されてこなかった *P. pasteri* がう蝕経験の少ない人ほど口腔に多く存在することを明らかにした。*P. pasteri* は口腔の健康状態を評価するマーカーとして、もしくはう蝕に罹患しにくい健康な口腔管理手法を開発していくうえでのターゲットとして有望な菌種であるといえる。本菌の性状についての培養に基づくより詳細な解析や今回構築した HOPE 法のような簡便な検査法の開発が、今後新たなう蝕制御アプローチを開発・推進していく上で重要な意味を持ってくることを確信している。