

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 歯 学 )	氏名	Mega Moeharyono Puteri
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目 Factors involved in transmission of <i>Streptococcus mutans</i> (ミュータンスレンサ球菌の伝播因子に関する研究)			
論文審査担当者 主 査 教 授 二 川 浩 樹 印 審査委員 教 授 天 野 秀 昭 審査委員 准教授 光 畑 智 恵 子			
〔論文審査の要旨〕  日本では齲蝕は近年減少傾向にあると言われているが、今まで多くの国で多発している疾患である。インドネシアでは国民のおよそ 85-95%が齲蝕に罹患しており、小児においてはおよそ 89%が罹患している。齲蝕は疼痛の原因となり、食事内容の偏りや不規則性、また、食欲や睡眠を妨げることなど局所的、全身的に健康増進に影響を及ぼし得る。 mutans streptococci (MS)はヒトの口腔内に一般的にみられる細菌であるが、特に、 <i>Streptococcus mutans</i> ( <i>S. mutans</i> ) および <i>Streptococcus sobrinus</i> ( <i>S. sobrinus</i> )は齲蝕発症に最も関連する細菌である。 出生時、小児の口腔内には MS は存在せず、成長とともに定着すると報告されているが、その侵入から定着に至る経路についての研究が進んでいる。MS の伝播の由来(感染源)は、これらの細菌の病原性発現において重要であるが、家族内あるいは家族外から伝播される。両親、特に母親は MS の主要な供給源であるという報告がある。多くの場合、養育を行う母親は小児にとって最初の接触者であり、食物や飲料また食器などを共有する母親は小児への MS 伝播の感染源としてハイリスクである。しかしながら、同様な行動により父親もまた小児に MS を伝播し得る。さらに託児所も MS 伝播にとって有利な環境である。小児が託児所で長時間を過ごし、ともに活動することは家族内から以上に家族外からの細菌の移動の可能性を増大し得る。 この研究の目的は、現研究フィールドである託児施設の小児並びにその両親を対象とし、得られた <i>S. mutans</i> 菌株を系統的に同定した後、 <i>S. mutans</i> に由来する因子の中で、伝播に関係する因子を検討することである。 MS 伝播には定着因子として、bacteriocin 産生能のような因子が関連する。bacteriocin は遺伝的に関連のある種や近縁の種である他の細菌のコロニー形成を阻害する。また、			

*S. mutans* の定着をサポートし、歯面への biofilm 形成を促進する。Biofilm の形成には以下に示す 2 通りの付着方法が関与している。sucrose 非存在下で *S. mutans* は antigen I / II のような表面タンパクと歯面の獲得エナメルペリクルとの相互作用により細菌付着が形成される。一方、sucrose 存在下では、*S. mutans* はグルカンを合成し、エナメル質上に細菌の定着に寄与するサイトを供給することで biofilm 形成に関与する。グルカンはグルコシルトランスフェラーゼ (glucosyltransferase, GTF) によって合成され、*S. mutans* では GTFB、GTFC、GTFD の 3 種類のグルコシルトランスフェラーゼが存在する。GTFB は *gtfB* によってコードされ不溶性グルカンを合成し、GTFC は *gtfC* によってコードされ水溶性、不溶性グルカンを合成し、GTFD は *gtfD* によってコードされ水溶性グルカンを合成する。

対象として、広島大学内の託児所の 1 歳から 6 歳の 37 人の小児 (男児 18 人、女児 19 人) について口腔内細菌を採取し検討した。

MS の検出は Igarashi ら (1996, 2000) のプライマーを用いた PCR によって行った。その結果に基づき、*S. mutans* 保有の小児について、本人と両親から再度、口腔内細菌の採取を行い、各保有 *S. mutans* 菌株について制限酵素として *EcoRI* と *HindIII* を用いた DNA fingerprint 法を用いることで系統的に同定を行った。その結果より、小児に伝播した菌株と伝播しなかった菌株を比較することで菌独自の性質のうち、伝播に関連する因子の探索を行った。

次に、関連する因子探索のために、寒天拡散を用いた bacteriocin assay, 590 nm で分光光度計を用いての biofilm 形成 assay, Yoshida ら (2003, 2005) のプライマーを用いた RT and quantitative PCR による *gtf* 遺伝子の mRNA 発現量による検討を行った。

PCR の結果、*S. mutans* のみが検出された小児は 2.7%, *S. mutans* および *S. sobrinus* が検出された小児は 27.0%, *S. sobrinus* のみが検出された小児は 70.3%であったが、*S. mutans* を保有していた小児は 11 人 8 家族であった。

DNA fingerprint 法の結果、いずれの小児も 1 種類の菌株を保有していた。両親のなかには 2 種類あるいは 3 種類の菌株を保有しているものが認められた。さらに両親と小児間、家族内あるいは家族外の小児間で同じ菌株の保有が認められた。また家族内で両親間に同じ菌株の保有が認められた。*S. mutans* 菌株のうち 8 株は類似のパターン (伝播) を示し、18 株は類似していなかった (非伝播)。この中からそれぞれ 6 株をランダムに抽出し、伝播株群、非伝播株群として比較検討を行った。Bacteriocin assay の結果は伝播株群、非伝播株群間に差はなかった。biofilm 形成は非伝播株群に比べ伝播株群でわずかに高い biofilm 形成が起こっている傾向が認められたが、有意な差はなかった。RT and quantitative PCR による *gtf* 遺伝子からの mRNA 発現量は非伝播株群に比べ伝播株群でより高いことが示された。*gtfC* 遺伝子で有意な差が認められたが ( $p < 0.05$ ), *gtfB* と *gtfD* には有意な差は認められなかった。

以上の結果より *gtfC* 遺伝子にコードされる GTFC は、不溶性、水溶性グルカンを合成するが *S. mutans* の伝播に関連する因子として影響を与える可能性が示唆された。

以上の結果から、本論文は MS の伝播因子に関し、分子生物学観点より新たに因子としての可能性を明らかにし、伝播研究発展の一助となると考える。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (歯学) の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。