



Title	コラーゲン結合タンパクを発現するStreptococcus mutans株の定着メカニズムの追究
Author(s)	大繼, 將寿
Citation	大阪大学歯学雑誌. 2026, 69(2), p. 1-6
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/105176
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

コラーゲン結合タンパクを発現する *Streptococcus mutans* 株の定着メカニズムの追究

大継 将寿*

(令和 7 年 3 月 19 日受付)

はじめに

Streptococcus mutans はグラム陽性の通性嫌気性細菌であり、う蝕の主要な病原細菌であるとともに感染性心内膜炎の起炎菌でもあることが知られている¹⁾。歯科治療や日々のブラッシングなどにより口腔内に出血が生じた際に、口腔内の細菌は口腔内の毛細血管部から侵入し、循環器疾患の発症に関与すると考えられているが²⁾、その 1 つに感染性心内膜炎が挙げられ、血管内に侵入した細菌が血小板やフィブリンとともに弁膜傷害部位に付着したり、疣腫と呼ばれる細菌塊を形成することで弁組織の炎症および破壊を引き起こすことが知られている³⁾。

S. mutans が心臓弁や血管内皮へ付着したり血液成分と反応する際に関与する因子として、分子量約 120 kDa の菌体表層タンパクであるコラーゲン結合タンパク (Collagen-binding proteins; CBPs) の存在が考えられている⁴⁾。CBPs はこれまでに Cnm と Cbm の 2 種類が同定されており、これらが発現している *S. mutans* 臨床分離株は約 10 ~ 20% であると考えられている。これらのコラーゲン結合タンパクを発現している菌株、すなわち CBP 陽性株は *S. mutans* の関連する感染性心内膜炎患者の心臓弁から高頻度で検出されることが報告されている⁵⁾。さらに、近年では CBP 陽性株が全身のさまざまな臓器において病原性を示すことが見出されている⁶⁻⁹⁾。

本稿では、CBP 陽性株の分子生物学的特徴や全身疾患との関連性について述べるとともに、CBP 陽性株の口腔内の定着に関与する因子について紹介する。

CBP 陽性 *S. mutans* の特徴

CBP 陽性株が有する分子生物学的特徴および感染性心内膜炎に対する病原性についてはこれまでに数多くの研究がなされてきた。*S. mutans* 臨床分離株約 100 株を用いて、血液成分および各種細胞外マトリックスとの反応を分析してきた研究では、CBP 陽性株はフィブリノーゲンに対して強い結合能および凝集能を示すことが明らかになった¹⁰⁾。また、*S. mutans* 臨床分離株に対して血小板凝集試験を行ったところ、CBP 陽性株はフィブリノーゲン存在下で顕著な血小板凝集反応を示すことが明らかになった¹⁰⁾。動物実験として、全身麻酔下にて右頸動脈よりカテーテルを挿入して心臓弁を傷害させたラット心内膜炎モデルを用いた病原性の評価では、CBP 陽性株感染時に心臓弁障害部位にて多数の細菌塊を形成することが明らかになった¹⁰⁾。これらのことから、CBP 陽性株は血液中のフィブリノーゲンを介して血小板と凝集し、疣腫を形成することで感染性心内膜炎の病原性に関与することが明らかになった。

一方で、CBP 陽性株はフィブリノーゲンだけでなく、血清中の IV 型コラーゲンに対しても強い結合能を示すことが明らかになっている¹¹⁾。*S. mutans* による感染性心内膜炎の病原性のスクリーニング分析として構築した *ex-vivo* バイオフィーム分析では、CBP 陽性株は IV 型コラーゲン存在下で心臓弁に高い結合能を示した¹¹⁾。さらに、*S. mutans* における血管内皮細胞への侵入実験では、CBP 陽性株は IV 型コラーゲン存在下にて血管内皮細胞への高い侵入率を示すことが明らかになった¹²⁾。これらのことから、CBP 陽性株は血清中の IV 型

* 大阪大学大学院歯学研究科成長発達歯学系部門小児歯科学講座

コラーゲンを介して血管内皮細胞に付着および侵入することで血管内皮細胞を障害し、感染性心内膜炎の病原性に関与することが明らかになった。

S. mutans の血液循環内への侵入経路

S. mutans をはじめとする口腔内細菌は、抜歯等の侵襲的な歯科治療や日々のブラッシングなどにより口腔内の毛細血管部から侵入すると考えられており、上記の動物実験においても一過性の菌血症における CBP 陽性株の病原性を反映したものであった。しかし、近年の研究では、口腔内に CBP 陽性株を感染させたラットう蝕モデルの心臓弁に傷害を与え、CBP 陽性株が口腔から心臓弁に波及し心臓弁障害部位にて病原性を示すかどうか分析がなされた。その結果、ラットの口腔内には CBP 陽性株によって歯髄に及ぶ重度のう蝕が生じるとともに、心臓弁障害部位では CBP 陽性株が付着することが明らかになった¹³⁾。この研究結果により、CBP 陽性株は露髄したう蝕変部から歯髄腔を通して血液循環内に侵入し、心臓弁傷害部位にて感染性心内膜炎の発症を誘発する可能性を有していることが明らかになった¹³⁾(図 1)。

CBP 陽性株と全身疾患

CBP 陽性株はこれらの特異性を有することで、感染性心内膜炎だけでなく、全身のさまざまな臓器において病原性を示すことが見出されている。例えば、脳卒中患者よりデンタルプラークを採取し分析した研究では、CBP 陽性株の保菌者は非保菌者と比較して微小脳出血の出現率が 4.7 倍高いことが明らかになっている⁶⁾。生

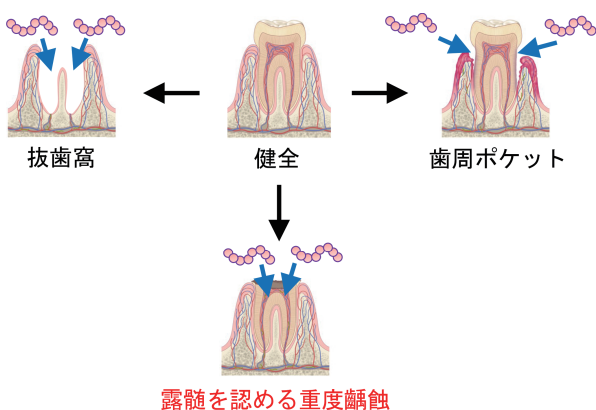


図1 CBP 陽性株の口腔から血液中への侵入経路

活習慣や年齢の影響によって損傷が生じた脳血管のコラーゲンに CBP 陽性株が接着することで、脳血管に炎症を生じるとともに血小板の働きが抑制されることで脳出血を引き起こす可能性が考えられている。

また、非アルコール性脂肪肝疾患 (Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) 患者より唾液およびデンタルプラークを採取した分析では、NAFLD 患者の中でもより重症である非アルコール性脂肪肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis; NASH) 患者において CBP 陽性株の検出率が 3.8 倍高いことが明らかになっている⁷⁾。脂肪が蓄積した肝細胞に CBP 陽性株が付着し繊維化することで、NAFLD における NASH への病態進行に関与している可能性が考えられている。

さらに、IgA 腎症の患者の唾液からも CBP 陽性株の検出率が高いことが報告されており、近年では CBP 陽性株の表層タンパクの血中投与のみでラットに腎炎を発症できることが明らかになっている^{8,9)}。このように、CBP 陽性株は血液循環を介して全身のさまざまな臓器において高い病原性を示すことが明らかになっており、医科領域と歯科領域が連携した研究が日々進んでいる(図 2)。

一方で、これらの CBP 陽性株が引き起こすと考えられる各種の全身疾患はいずれも予防法が確立できていないのが現状である。さらに、近年の研究では CBP 陽性株は抗菌薬によって死菌処理された状態であっても、一定レベルのコラーゲン結合能を保有しており、病原性が完全には消失しないことが明らかになった¹⁴⁾。この

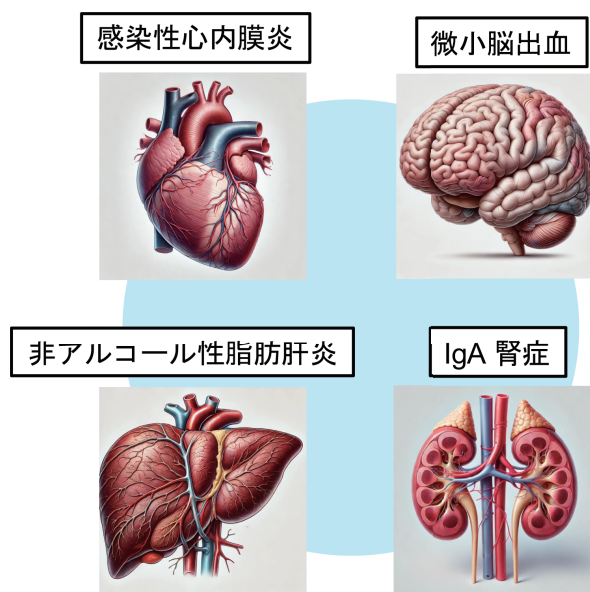


図2 CBP 陽性株が有する様々な全身疾患の病原性

ことから、CBP 陽性株の病原性が関与すると考えられている全身疾患を予防する上では、CBP 陽性株を口腔内に定着させないことが最も有効な予防法であると考えられる。

CBP 陽性株の伝播および定着

一般的に、*S. mutans* は養育者の唾液から子に伝播し定着すると考えられているが¹⁵⁾、CBP 陽性株の伝播についての検討はこれまでになされていなかった。また、小児および成人における CBP 陽性株の保有率についても詳細なデータは少ない現状にあった。これらのことから、筆者は CBP 陽性株の伝播および定着環境について明らかにするために、CBP 陽性株を口腔内に保有する小児および養育者の特性について解析を行うこととした¹⁶⁾。

316 組の小児 (平均年齢 6.0 ± 2.2 歳) およびその養育者から安静時唾液を滅菌チューブに採取し、分子生物学的分析に用いた。採取した唾液サンプルを生理食塩水にて段階希釈し、*S. mutans* の選択培地である Mitis-Salivarius bacitracin 寒天培地に播種した後、37℃で48時間嫌気性下にて培養した。形成されたコロニーを対象者1人から5個ずつ採取し、Brain Heart Infusion 液体培地で培養後、通法にて染色体 DNA を抽出した。その後、PCR 法にて *S. mutans* の遺伝子の同定を行い、*S. mutans* の遺伝子が同定されたサンプルに関しては、2種類のCBPs (Cnm, Cbm) をコードする遺伝子の有無を確認した。また、患児の年齢、性別、DMFT/dmft を記録するとともに養育者への問診 (年齢、う蝕経験歯数、患児の在胎週数、患児の母乳摂取期間、患児の人工乳摂取期間) を行った。

その結果、316 組の小児およびその養育者のペアのうち、100 組において小児および養育者の両方より *S. mutans* が検出された。この100組の *S. mutans* 保菌者のうち、CBP 陽性株は小児から17%、養育者から29%検出された。CBP 陽性株の中でも Cnm 陽性株の保菌率が高く、小児で15%、成人で27%であった。一方、Cbm 陽性株保菌率は小児、成人ともに2%と低い頻度であった (図3)。

ペアごとの CBP 陽性株保菌者を比較すると、子と養育者がともに CBP 陽性株保菌者であるペアが12組、子のみ CBP 陽性株保菌者であるペアが5組、養育者のみ CBP 陽性株保菌者であるペアが17組、子と養育者がともに CBP 陽性株を保菌していないペアは66組であっ

た。CBP 陽性株を保有している養育者では、保有していない養育者と比較して、子が CBP 陽性株保菌者である確率が有意に高く、CBP 陽性株は通常の *S. mutans* と同様に養育者から子に伝播する傾向が強いことが明らかになった (図4)。また、CBP 陽性株保菌者である小児は CBP 陽性株を保菌していない小児と比較して母乳育児期間が有意に短く、母乳摂取経験がない小児が有意に多いことも明らかになった (図5)。

おわりに

う蝕の主要な病原細菌である *S. mutans* のうち、菌体表層にコラーゲン結合タンパクを発現している CBP 陽性株は、その特異性がゆえに口腔から血液循環に侵入し、感染性心内膜炎、微小脳出血、非アルコール性脂肪肝炎、IgA 腎症などの全身疾患の病原性に関連することが報告されている。医科領域と歯科領域が連携した研究が日々進んでおり、今後はそれらの疾患の病原メカニズムの詳細が明らかになっていくことが予想される。一方で、これらの疾患はいずれも予防法が確立されておらず、CBP 陽性株を口腔内に定着させない

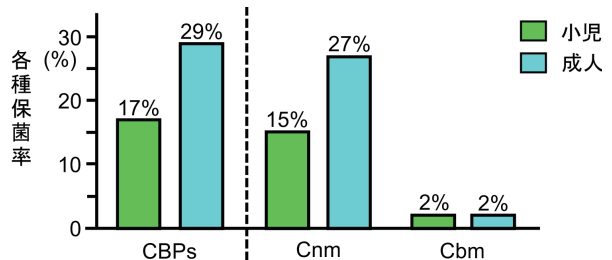


図3 小児および成人 (養育者) の CBP 陽性株保菌率

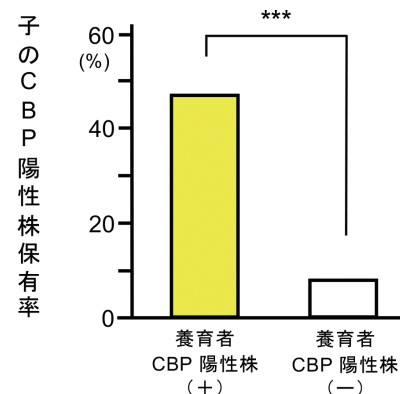


図4 養育者と子における CBP 陽性株保有率の関係 (***; $P < 0.001$, Fisher's exact test)

ことが現時点では最も有効な予防法であると考えられる。CBP 陽性株の伝播および定着環境については不明な点が多かったが、CBP 陽性株は通常の *S. mutans* と同様に養育者から子へ伝播する傾向が強く、乳幼児期の授乳習慣がCBP 陽性株の口腔内への定着に影響を及ぼす一因であることが明らかになった。筆者は今後、CBP 陽性株が口腔内へ定着する上で母乳中の抗菌成分が与える影響について明らかにしたいと考えている。

一方で、*S. mutans* は生後 19 か月から 31 か月頃のいわゆる「感染の窓」と言われる時期に最も伝播し定着すると考えられているが¹⁷⁾、乳歯未萌出期の小児から

も *S. mutans* が検出されることが複数の研究から報告されている^{18,19)}。また、CBP 陽性株は歯だけでなく細胞外マトリックスへの強い結合能を有することから、口腔粘膜など軟組織に定着する可能性も考えられる²⁰⁾。これらのことから、CBP 陽性株は定着時期や定着部位が通常の *S. mutans* とは異なっている可能性も考えられる (図 6)。さまざまな特異性を有する CBP 陽性株について今後さらなる研究が進むことで、私たちが *S. mutans* に抱く常識が大きく覆される日がやってくるかもしれない。

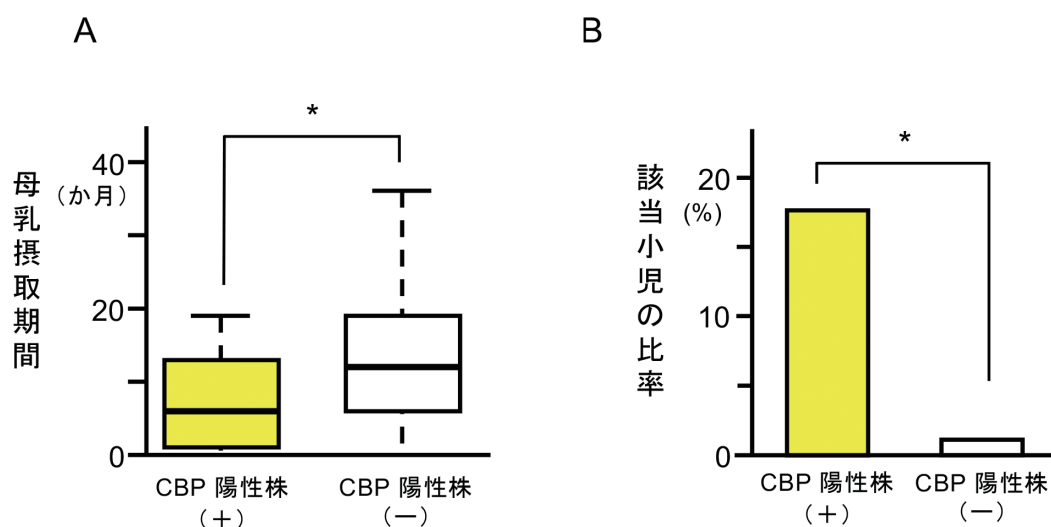


図5 CBP 陽性株を保有する小児の特徴

A: 母乳摂取期間 (*: $P < 0.05$, Mann-Whitney U test)

B: 母乳摂取経験のない小児の割合 (*: $P < 0.05$, Fisher's exact test)

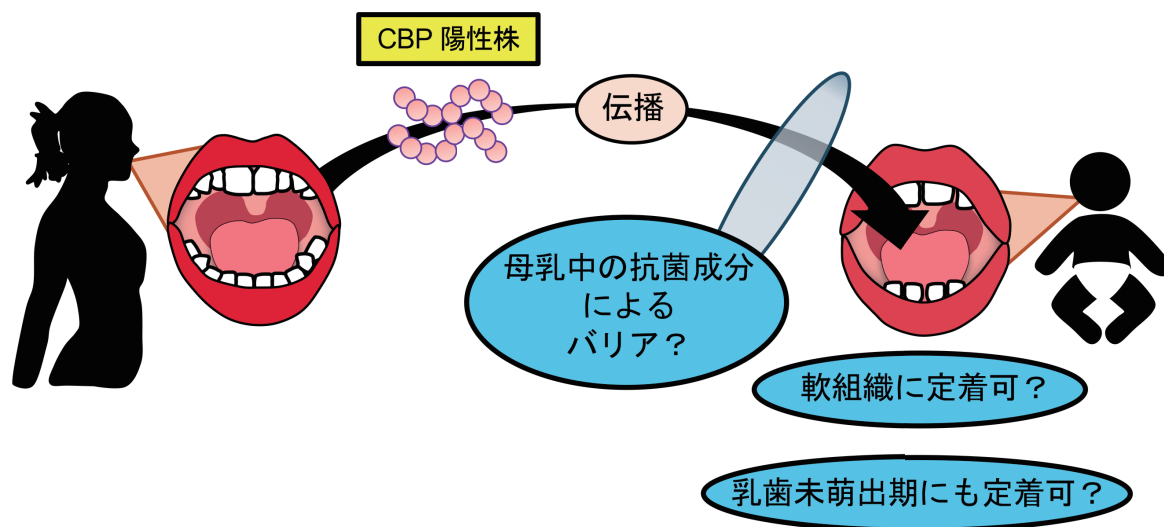


図6 CBP 陽性株の伝播および定着環境に関する研究課題

謝 辞

本研究の遂行にあたり、終始ご指導を賜りました大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学講座 仲野和彦教授、広島大学大学院医系科学研究科小児歯科学 野村良太教授に厚く御礼申し上げます。また、終始研究に対し、御理解と御協力をいただいた大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学講座の教室員の皆様に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Hamada, S. and Slade, H. D. (1980): Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev* **44**: 331-384.
- 2) Seymour, R. A., Lowry, R., Whitworth, J. M. and Martin, M. V. (2000): Infective endocarditis dentistry and antibiotic prophylaxis; time for a rethink? *Br Dent J* **189**: 610-616.
- 3) Moreillon, P. and Que, Y. A. (2004): Infective endocarditis. *Lancet* **363**: 139-149.
- 4) Nomura, R., Nakano, K., Naka, S., Nemoto, H., Masuda, K., Lapirattanakul, J., Alaluusua, S., Matsumoto, M., Kawabata, S. and Ooshima, T. (2012): Identification and characterization of a collagen-binding protein, Cbm, in *Streptococcus mutans*. *Mol Oral Microbiol* **27**: 308-323.
- 5) Nomura, R., Naka, S., Nemoto, H., Inagaki, S., Taniguchi, K., Ooshima, T. and Nakano, K. (2013): Potential involvement of collagen-binding proteins of *Streptococcus mutans* in infective endocarditis. *Oral Dis* **19**: 387-393.
- 6) Hosoki, S., Saito, S., Tonomura, S., Ishiyama, H., Yoshimoto, T., Ikeda, S., Ikenouchi, H., Yamamoto, Y., Hattori, Y., Miwa, K., Friedland, R. P., Carare, R. O., Nakahara, J., Suzuki, N., Koga, M., Toyoda, K., Nomura, R., Nakano, K., Takegami, M., Ihara, M. (2020): Oral carriage of *Streptococcus mutans* harboring the *cnm* gene relates to an increased incidence of cerebral microbleeds. *Stroke* **51**: 3632-3639.
- 7) Tonomura, S., Naka, S., Tabata, K., Hara, T., Mori, K., Tanaka, S., Sumida, Y., Kanemasa, K., Nomura, R., Michiyo Matsumoto-Nakano, M., Ihara, M., Takahashi, N. and Nakano, K. (2019): Relationship between *Streptococcus mutans* expressing Cnm in the oral cavity and non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *BMJ Open Gastroenterol* **6**: e000329.
- 8) Misaki, T., Naka, S., Kuroda, K., Nomura, R., Shioka, T., Naito, Y., Suzuki, Y., Yasuda, H., Isozaki, T. and Nakano, K. (2015): Distribution of *Streptococcus mutans* strains with collagen-binding proteins in the oral cavity of IgA nephropathy patients. *Clin Exp Nephrol* **19**: 884-850.
- 9) Naka, S., Matsuoka, D., Misaki, T., Nagasawa, Y., Ito, S., Nomura, R., Nakano, K. and Matsumoto-Nakano, M. (2024): Contribution of collagen-binding protein Cnm of *Streptococcus mutans* to induced IgA nephropathy-like nephritis in rats. *Communications Biology* **7**: 1141.
- 10) Nomura, R., Otsugu, M., Naka, S., Teramoto, N., Kojima, A., Muranaka, Y., Matsumoto-Nakano, M., Ooshima, T. and Nakano, K. (2014): Contribution of the interaction of *Streptococcus mutans* serotype *k* strains with fibrinogen to the pathogenicity of infective endocarditis. *Infect Immun* **82**: 5223-5234.
- 11) Otsugu, M., Nomura, R., Matayoshi, S., Teramoto, N. and Nakano, K. (2017): Contribution of *Streptococcus mutans* Strains with Collagen-Binding Proteins in the Presence of Serum to the Pathogenesis of Infective Endocarditis. *Infect Immun* **85**: e00401-17.
- 12) Nomura, R., Otsugu, M., Hamada, M., Matayoshi, S., Teramoto, N., Iwashita, N., Naka, S., Matsumoto-Nakano, M. and Nakano, K. (2020): Potential involvement of *Streptococcus mutans* possessing collagen binding protein Cnm in infective endocarditis. *Sci Rep* **10**: 19118.
- 13) Nomura, R., Matayoshi, S., Otsugu, M., Kitamura, T., Teramoto, N. and Nakano, K. (2020): Contribution of Severe Dental Caries Induced by *Streptococcus mutans* to the Pathogenicity of Infective Endocarditis. *Infect Immun* **88**: e00897-19.
- 14) Suehiro, Y., Nomura, R., Matayoshi, S., Otsugu, M., Iwashita, N. and Nakano, K. (2022): Evaluation of the collagen-binding properties and virulence of killed *Streptococcus mutans* in a silkworm model. *Sci Rep* **12**: 2800.
- 15) Berkowitz, R. J., Turner, J. and Green, P. (1981): Maternal salivary levels of *Streptococcus mutans* and primary oral infection of infants. *Arch Oral Biol* **26**: 147-149.
- 16) Otsugu, M., Mikasa, Y., Kitamura, T., Suehiro, Y., Matayoshi, S., Nomura, R. and Nakano, K. (2022): Clinical characteristics of children and guardians possessing CBP-positive *Streptococcus mutans* strains: a cross-sectional study. *Sci Rep* **12**: 17510.
- 17) Caufield, P. W., Cutter, G. R. and Dasanayake, A. P. (1993): Initial acquisition of mutans streptococci by infants: Evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res* **72**: 37-45.
- 18) Milgrom, P., Riedy, C. A., Weinstein, P., Tanner, A. C., Manibusan, L. and Bruss, J. (2000): Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet, and oral hygiene in 6- to 36-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol* **28**: 295-306.
- 19) Thakur, R., Singh, M. G., Chaudhary, S. and Manuja, N. (2012): Effect of mode of delivery and feeding practices on acquisition of oral *Streptococcus mutans* in infants. *Int J Paediatr Dent* **22**: 197-202.

- 20) Switalski, L. M., Butcher, W. G., Caufield, P. C. and Lantz, M. S. (1993): Collagen mediates adhesion of

Streptococcus mutans to human dentin. *Infect Immun* **61**: 4119-4125.