



Title	Fretibacterium fastidiosumの栄養要求性探索および宿主への影響に関する研究
Author(s)	工藤, 摩周
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105347
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (工 藤 摩 周)

論文題名 *Fretibacterium fastidiosum*の栄養要求性探索および宿主への影響に関する研究

論文内容の要旨

近年、歯周病は特定菌の感染によって成立するものではなく、歯肉縁下プラーク構成菌のバランスの乱れ、すなわちディスバイオーシスに起因するものである、という概念へとその病因論が転換している。この中で、新興病原菌候補として注目されているのが難培養菌*Fretibacterium fastidiosum*である。本菌は歯周炎重症部位のプラーク中で顕著に増加し、治療後に減少することから病態との強い相関が示唆される。しかし本菌は、*Fusobacterium nucleatum*に対する栄養的依存性を示し、単一培養が困難なため、その生物学的特性や病原性機構の解明は遅れていた。そこで本研究では、オミクス解析および分子細胞生物学的手法を用い、*F. fastidiosum*と*F. nucleatum*との栄養共生機構を解明することを第一の目的とした。次に、宿主歯肉上皮細胞に及ぼす同菌の影響を観察することで、歯周病の病態形成における同菌の役割を理解することを第二の目的とした。

まず、安定培養系確立のため種々の還元剤および含硫物質の添加効果を検討し、5 mM L-システイン塩酸塩の添加が本菌の増殖を促進することを特定したことから、以後の*F. fastidiosum*の培養にはこの条件を用いた。次に、共培養試験を実施したところ、*F. nucleatum* subsp. *nucleatum*が本菌のバイオフィーム形成を最も強く促進した。この共生関係解明のためRNA-seqおよびメタボローム解析を行った。RNA-seqでは、共培養初期にコバラミン関連遺伝子の発現が上昇した。本菌はコバラミン合成経路を部分的に欠損しているが、コバラミン添加によりバイオフィーム形成が促進されたことから、*F. nucleatum*が供給するコバラミンもしくはコバラミン合成経路の中間代謝物に対する栄養応答性が示唆された。またメタボローム解析では、共培養下で産生されるプトレッシンの顕著な増加が確認された。培地への添加実験により、プトレッシンが*F. fastidiosum*のプランクトニック状態での増殖のみならずバイオフィーム形成を促進することが認められ、*F. nucleatum*との共培養下で活発に産生される同物質が*F. fastidiosum*のバイオフィーム生活環を加速させている可能性が示された。

次に、宿主細胞への影響を検討したところ、*F. fastidiosum*培養上清は、ヒト歯肉上皮細胞（IHGE細胞）のタイトジャンクション分子CXADRの発現をタンパク質レベルで減少させた。一方でmRNAの発現は増加したことから、この減少は翻訳後分解に起因すると考えられた。さらに、本菌培養上清は三次元上皮モデルにおいて、デキストラン等の透過性を亢進させたが、CXADR過剰発現株ではこれが抑制された。以上より、本菌はCXADR分解を介して上皮バリアを破綻させることが示された。

結論として、難培養菌*F. fastidiosum*は*F. nucleatum*との代謝的共生により歯肉縁下における生態学的ニッチを獲得し、CXADR分解を通じて上皮バリアを破壊するという、増殖・病原性発現の分子基盤が明らかとなった。本知見は、歯周病の新たな病態モデルの理解および制御戦略構築に貢献するものである。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (工 藤 摩 周)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教 授
	副 査	教 授
	副 査	准教授
	副 査	講 師
久保庭雅恵 川端重忠 野崎剛徳 村上旬平		
論文審査の結果の要旨 本研究では、難培養性歯周病菌 <i>Fretibacterium fastidiosum</i> の培養条件を検討し、培地への L-システイン添加が本菌の安定培養に寄与することを見出した。次いで、片利共生細菌である <i>Fusobacterium nucleatum</i> との共培養下におけるトランスクリプトーム解析およびメタボローム解析により、本菌の増殖に関わる重要な因子としてコバラミンおよびプトレッシンを特定した。さらに、本菌の培養上清が歯肉上皮組織のバリア機能タンパク質の一つである CXADR (Coxsackievirus and adenovirus receptor) の発現量を減少させることにより、三次元歯肉上皮組織モデルの異物透過性を亢進させることを示した。 以上の研究結果は、その難培養性からこれまでほとんど報告のなかった歯周病菌 <i>F. fastidiosum</i> の基礎的な生理学的特性と病原性の一端を初めて報告したものであり、今後の歯周病病因論の理解と、効果的な予防法の開発に寄与することが期待される。よって、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。		