



Title	Streptococcus mutans表層タンパク抗原PAcのう蝕および感染性心内膜炎に対する病原性における役割
Author(s)	辻, 幹人
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47567
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

氏名	辻 幹 人
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 21066 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学位論文名	<i>Streptococcus mutans</i> 表層タンパク抗原 PAc のう蝕および感染性心内膜炎に対する病原性における役割
論文審査委員	(主査) 教授 大嶋 隆 (副査) 教授 天野 敦雄 助教授 小川 裕三 助教授 今里 聡

論文内容の要旨

【研究目的】

Streptococcus mutans はヒトう蝕の主要な病原細菌であり、う蝕の発生に主要な役割を果たしている。う蝕は *S. mutans* のペリクルで覆われた歯面への初期付着を契機として始まり、デンタルプラークの形成と、その直下でのエナメル質脱灰という過程を経て引き起こされる。歯面への付着能は *S. mutans* の主要病原因子の一つと考えられており、歯面への初期付着には *S. mutans* の菌体表層構成成分の一つである分子量 19 万のフィンブリエ様タンパク抗原 (PAc) が深く関与していることが報告されている。PAc 分子の推定構造は、アミノ末端側にシグナルペプチドと考えられる領域が存在し、カルボキシル末端側には細胞膜結合部位と推定される領域が存在する。PAc のアミノ末端側には繰り返し構造領域 A-リピート領域とカルボキシル末端側には繰り返し構造領域 P-リピート領域が存在し、各領域の機能についての様々な研究が行われている。しかし、唾液タンパクの PAc 上の結合部位については特定されるにはいたっていない。一方、*S. mutans* は感染性心内膜炎の主要な病原細菌の一つとしても知られている。この感染性心内膜炎と *S. mutans* の菌体表層タンパクである PAc との関連についての調査では、健康な人に比べて感染性心内膜炎の患者では PAc に対する抗体価が上昇しており、PAc がフィブロネクチンや、I 型コラーゲンとの結合に深く関わっているという報告がある。このように、PAc が *S. mutans* の感染性心内膜炎における病原性に何らかの役割を演じていると考えられているものの、その発生機序については明らかになっていない。本研究の目的は、PAc 欠失変異株を作製し、分子生物学的手法を用いて、PAc の、①う蝕病原性に関与する機能領域を明らかにすること、②感染性心内膜炎に対する病原性における役割を明らかにすること、である。

【実験方法】

1) 供試菌の由来と生物学的性状

本学小児歯科学教室で保有する、日本人小児口腔より分離した *S. mutans* MT8148 株 (血清型 c) を野生株として用いた。

2) *S. mutans* の PAc 欠失変異株の作製

pac 遺伝子の各領域にエリスロマイシン耐性遺伝子を挿入することで、細胞膜結合部位にて挿入失活させた変異株

PD株、A-リピート領域で挿入失活させた変異株 PDG12株、可変領域で挿入失活させた変異株 PDG34株、P-リピート領域で挿入失活させた変異株 PDG56株を作製した。

3) リコンビナントタンパクの作製

S. mutans の PAc 全配列を含むリコンビナントタンパク rPAc、A-リピート領域を含むリコンビナントタンパク rG12、P-リピート領域を含むリコンビナントタンパク rG56 を作製した。

4) う蝕病原性との関連

MT8148株およびPAc欠失変異株において、う蝕病原性に関与する性状である菌体疎水性と唾液被覆ハイドロキシアパタイトへの付着実験について調べた。また、PAcのう蝕病原性に関与する機能領域を明らかにするために、リコンビナントタンパクを用いて、PAcの唾液タンパクへの結合能およびBIAcoreシステムによる解析を行った。

5) 感染性心内膜炎への関連の検討

MT8148株およびPAc欠失変異株PD株において、ヒト多型核白血球による食作用率を *in vitro* の試験系で調べた。また、*in vivo* におけるPAc欠失変異株の血中生存時間の評価をラット菌血症モデルで検討した。さらに、MT8148株、およびPAc欠失変異株PD株において血管内皮細胞への付着能および血小板凝集能を調べた。血小板凝集能の実験ではrPAcおよび抗rPAc抗体の血小板凝集の抑制効果も評価した。

【結果および考察】

PAc欠失変異株において、菌体疎水性および唾液被覆ハイドロキシアパタイトへの菌の吸着能が親株MT8148株と比較して有意に低下していた。また、唾液被覆ハイドロキシアパタイトへの吸着能はPAc欠失変異株にA-リピート領域を含むタンパクを加えることで回復した。さらに、A-リピート領域は唾液タンパク成分のPRP (proline rich protein) と特異的に結合する能力があり、P-リピート領域はPAcと結合する能力が認められた。

PAc欠失変異株において、ヒト多型核白血球による食作用率が親株MT8148株と比較して有意に低下していた。さらに、PAc欠失変異株におけるラット血液中の生存時間は親株MT8148株と比較して有意に長くなっていた。また、親株MT8148株では血小板の凝集が観察されたが、PAc欠失変異株では血小板の凝集が観察されなかった。また、親株MT8148株では血小板の凝集がrPAcおよび抗rPAc抗体によって抑制された。しかし、細胞への付着とPAcは関わりが少なかった。

以上のことから、PAc欠失変異株では、*S. mutans*のう蝕原性に深く関与する菌体疎水性および唾液被覆ハイドロキシアパタイトへの菌の吸着能の低下を示すことから、*S. mutans*によるう蝕の発生に強く関与していることを示している。また、これらの菌の歯面への吸着におけるPAcの機能領域はA-リピート領域であることが示唆された。血中における病原性では、PAcは血小板の凝集に必要不可欠であり、感染性心内膜炎の発症にはPAcによる血小板への付着および凝集の誘導に関与している可能性が高いと考えられる。このようにPAcはう蝕原性に深く関与しているだけでなく、血中での病原性にも深く関わっていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、*S. mutans* 菌体表層タンパク抗原 PAc がう蝕および感染性心内膜炎において果たす役割を PAc 欠失変異株を用いて検討したものである。その結果、*S. mutans* のう蝕原性に深く関与する唾液被覆ハイドロキシアパタイトへの吸着には、唾液プロリン・リッチ・タンパクと特異的に結合する PAc の A-リピート領域が強く与することを明らかにした。また、感染性心内膜炎の発症に関与する血小板凝集において PAc の存在は必要不可欠である反面、PAc の欠失は *S. mutans* 菌体の血液中での生存にポジティブに働くことを明らかにした。本研究の結果は、*S. mutans* のう蝕および感染性心内膜炎における病原性とそれに対する予防法を明らかにする上で重要な示唆を与えるものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。