The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	脳出血における増悪因子としてのStreptococcus mutans の解析
Author(s)	谷口, 奈穂
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58427
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、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

【38】

氏　　名	谷口奈穂（たにぐち なほ）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学　位　記　番　号	第　２４４９５　号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 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	脳出血における増悪因子としての*Streptococcus mutans* の解析
論文審査委員	（主査） 教　授　大嶋　　隆 （副査） 教　授　恵比須繁之　　准教授　松本　　憲　　講　師　山田　　聡

論文内容の要旨

【緒言】

う蝕の主要な病原細菌である *Streptococcus mutans* は，菌血症や感染性心内膜炎患者の血液から分離されることが知られており，病原性の発揮に関連する様々な菌体表層タンパク抗原が明らかにされている．分子量約 120 kDa のコラーゲン結合タンパク（Cnm タンパク）もその１つであり，口腔分離株の約 10～20 % に存在していることが示されている．本研究では，Cnm タンパクに焦点をあて，*S. mutans* 菌株が脳出血の増悪に及ぼす影響について検討した．

【材料および方法】

１．本研究で用いた *S. mutans* 菌株

Cnm 陽性株として TW295 株, TW871 株, SA53 株および LJ32 株を使用した．また，対照株として Cnm を保有しない MT8148 株を用いた．Cnm 陽性株の特定には，515 株の臨床分離株を用いた．また，*cnm* 遺伝子にエリスロマイシン耐

性遺伝子を挿入，不活化したCnm 欠失変異株（CND 株）を作製した．

2．Cnm タンパク保有株の生物学的性状の分析

各供試菌株のコラーゲン結合能の測定を行った．また，*cnm* 遺伝子発現の度合いを数値化し，コラーゲン結合能との関連を分析した．さらに，血小板凝集能を検討するとともに，ゼータ電位を測定し菌体表層電荷を評価した．

3．マウス脳出血モデルにおける病原性の検討

マウス脳出血モデルにおける検討は，Balb/c 系マウスの右側頸静脈より光増感剤を投与し，露出させた左側中大脳動脈に光照射をして血管の損傷を引き起こし，軽度の脳出血を誘発させた．その後，右側頸静脈より供試菌を感染させ，24 時間後に脳組織を摘出し，出血部の面積を画像解析して合計出血面積を測定した．また，各臓器における供試菌の存在の有無を確認した．

4．脳血管疾患患者における口腔検体の分析

脳出血患者26名と健常者35名の口腔より *S. mutans* 株を分離し，*cnm* 遺伝子存在の有無を調べ，その陽性率を比較した．さらに，脳出血患者口腔由来でCnm陽性の 2 株について，コラーゲン結合能および血小板凝集能を測定するとともに，マウス脳出血モデルにおける病原性を評価した．

【結果】

1．Cnm 陽性株の特定と配列の決定

本研究で分析した515 株の *S. mutans* において，Cnm 陽性株は 54 株（10.5 %）で，口腔分離株では少ない血清型 *f* や *k* が多数を占めた．その遺伝子配列を調べると，コラーゲン結合領域および細胞壁貫通領域の配列は全株で一致していたが，繰り返し領域のリピート数には，バリエーションが認められた．

2．Cnm 陽性株の生物学的性状の分析

コラーゲン結合能の分析において，Cnm 陽性株では株ごとに程度の差があり，CND 株では完全に消失していた．また，コラーゲン結合能と *cnm* 遺伝子発現との間には，正の相関が認められた．さらに，Cnm 陽性株では，Cnm 陰性株であるMT8148 株よりも有意に血小板凝集能が低く，Cnm 欠失変異株では，野生株と比較して血小板凝集能の有意な上昇が認められた．菌体表層のゼータ電位を測定すると，Cnm 陰性株ではゼロに近い値を，Cnm 陽性株では大きくマイナスの値を示す傾向があり，血小板凝集能とゼータ電位の値の間には，正の相関が認められた．

3．マウス脳出血モデルにおける検討

Cnm 陽性株では，Cnm 陰性株と比較して脳出血の増悪が認められた．しかし，Cnm 欠失変異株では，脳出血の増悪は認められず，コラーゲン結合能と脳出血面積との間に正の相関を認めた．損傷側および非損傷側の脳，肺，肝臓，小腸の組織から細菌DNA 抽出を行い，PCR 法を用いて *S. mutans* の存在を調べると，損傷側の脳のみ陽性反応を認めた．

4．脳血管疾患患者口腔検体における検討

脳出血患者と健常者における *cnm* 陽性株の検出率は，脳出血群が 62.5%であり，健常群の約 4 倍の値を示した．脳卒中患者の口腔由来のCnm 陽性株では，MT8148 株と比較して高いコラーゲン結合能を有し，非感染群に比べ有意に高い脳出血面積を示した．

【考察】

本研究において，Cnm 陽性 *S. mutans* 株は血小板凝集を抑制する性状を有し，脳出血マウスモデルにおいて脳出血の増悪をもたらすことが明らかになった．また，Cnm 欠失変異株ではこれらの現象が生じなくなることや，脳出血患者の口腔内には，健常者よりも高頻度でCnm陽性の *S. mutans* 株が存在することは，Cnm 陽性 *S. mutans* が脳出血の増悪に関与する可能性の高いことを示している．

論文審査の結果の要旨

本研究は，*Streptococcus mutans* におけるコラーゲン結合タンパク（Cnm タンパク）が脳出血悪化に及ぼす影響を解析したものである．その結果，Cnm 陽性株はマウス脳出血モデルにおいて脳出血を悪化させること，脳出血患者の口腔内には健常者よりも高頻度で Cnm 陽性株が存在することが示された．以上の結果は，*S. mutans* の脳出血に及ぼす影響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．