



Title	Streptococcus mutansの菌体表層構造とフィブリノーゲンとの反応による感染性心内膜炎病原メカニズムの解析
Author(s)	野村, 良太; 仲野, 和彦
Citation	大阪大学歯学雑誌. 2016, 60(2), p. 1-9
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/60668
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Streptococcus mutans の菌体表層構造とフィブリノーゲンとの反応による感染性心内膜炎病原メカニズムの解析

野村良太*, 仲野和彦*

(平成 28 年 1 月 31 日受付)

はじめに

感染性心内膜炎は、歯科領域で最もよく知られている全身疾患の 1 つであり、ある種の口腔細菌が血液中に侵入することにより生じることがあるとされている¹⁾。口腔内の出血により生じる菌血症は、健常者では多形核白血球をはじめとした免疫系の働きにより一過性であることが多い¹⁾。一方で、先天性心疾患や人工弁置換術を行った患者では、内皮傷害が生じている心臓弁膜や心内膜において細菌が付着することがある¹⁾。さらに、血小板やフィブリンとともに疣贅（ゆうぜい）と呼ばれる細菌塊が形成されると、感染性心内膜炎の発症に至ると考えられている²⁾。感染性心内膜炎の主要な起炎菌としては、黄色ブドウ球菌と口腔レンサ球菌が知られている^{3, 4)}。欧米諸国の報告では黄色ブドウ球菌の検出頻度が高いのに対し³⁾、日本で行われた調査では、口腔レンサ球菌種が約半数を占め、黄色ブドウ球菌は約 35% の症例で分離されている^{4, 5)}。

口腔レンサ球菌の 1 つでありう蝕の主要な病原細菌である *Streptococcus mutans* は、感染性心内膜炎の起炎菌としても知られている⁶⁾。*S. mutans* は菌体表層に存在するグルコースとラムノースのポリマーで構成される多糖抗原の構造の違いにより血清学的に *c/e/f/k* の 4 種の血清型に分類される^{6, 7)}。口腔内から分離される *S. mutans* 株の約 70 ~ 80% は *c* 型、約 20% が *e* 型に

分類され、*f* 型株や *k* 型株は 5% 以下の頻度でしか分離されない⁷⁾。このような血清型分布は、日本だけでなくフィンランドやタイでも同様の傾向を示す^{8, 9)}。これまでに、心臓弁置換術の適応となった多数の循環器疾患患者から摘出した心臓弁検体を用いて、分子生物学的手法により分析したところ、*S. mutans* の細菌 DNA が高頻度で検出されている¹⁰⁾。それらの *S. mutans* 陽性検体の血清型分布は、健常者の口腔におけるものと著しく異なり、*c* 型以外の血清型に分類される菌株が高頻度に検出される^{10, 11)}。

口腔細菌が感染性心内膜炎の病変部において病原性を発揮するメカニズムの詳細に関しては不明な点も多いが、菌自体の病変部組織への付着能が重要であると考えられている¹²⁾。菌は病変部組織へ付着するために、生体に存在するコラーゲン、フィブロネクチン、ラミニニンなどの細胞外マトリックスに結合することが明らかになってきている¹²⁾。本稿では、*S. mutans* の菌体表層タンパクに着目し、細胞外マトリックスの一つであるフィブリノーゲンとの反応が感染性心内膜炎の病原性に及ぼす影響について、これまで得られている知見を概説する。

* 大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座（小児歯科学教室）

本総説の内容の一部は、平成 28 年 1 月 14 日に開催された大阪大学歯学会第 121 回例会において、平成 27 年度弓倉学術奨励賞の受賞講演（対象論文：Nomura, R. *et al.* (2014): Contribution of the interaction of *Streptococcus mutans* serotype *k* strains with fibrinogen to the pathogenicity of infective endocarditis, *Infect Immun*, 82, 5223-5234.）として発表した。本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金（19209063, 19791572, 21792067, 23390472, 15K11363）の支援のもと行われた。

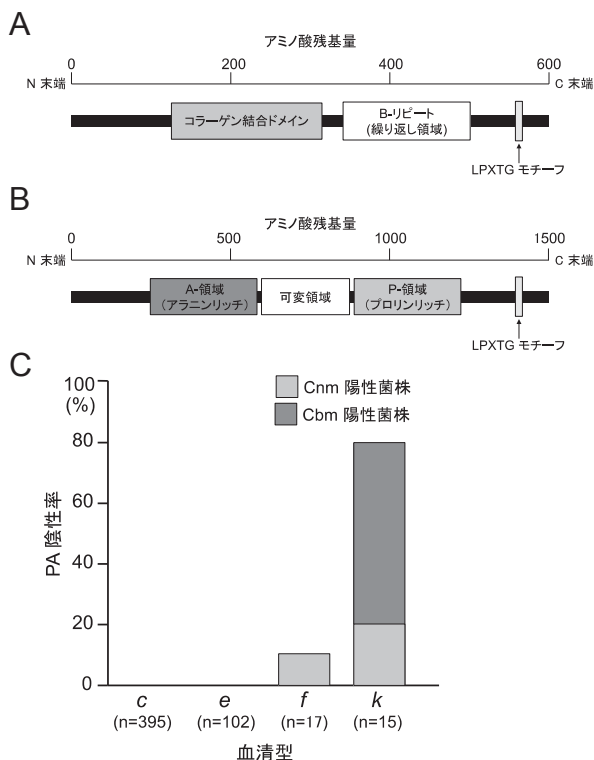


図1 感染性心内膜炎の病原性に関する *S. mutans* 株の菌体表層タンパク

A. *S. mutans* のコラーゲン結合タンパクである Cnm および Cbm の推定構造
 B. *S. mutans* の PA タンパクの推定構造
 C. 各血清型におけるコラーゲン結合タンパクを有する *S. mutans* 株のうち PA を発現しない株の頻度 日本人、フィンランド人およびタイ人の口腔から分離した *S. mutans* 株を用いて、PCR 法およびウェスタンブロットティング法により算定した。

1. 感染性心内膜炎の病原性に関する *S. mutans* の菌体表層タンパク

S. mutans において、2004 年に細胞外マトリックスのうち I 型コラーゲンに結合する菌体表層タンパクとして Cnm が同定された¹²⁾。Cnm の分子量は約 120kDa であり、主としてコラーゲン結合ドメインと繰り返し領域である B-リピート領域から構成されている (図 1 A)。Cnm の C 末端には細胞壁アンカータンパクの一種であることを示す LPXTG 配列が認められ、この配列により Cnm は菌の細胞壁に結合している。Cnm は I 型コラーゲンに結合するだけでなく、I 型コラーゲンと同様に血管壁に多く含まれる III 型コラーゲンや、血管内皮細胞下の基底膜に多く含まれる IV 型コラーゲンおよびラミニンにも結合することが示されている^{12, 13)}。一方、2012

年に *S. mutans* のもう一つのコラーゲン結合タンパクである Cbm が同定された¹⁴⁾。Cbm は Cnm と類似した構造を有しており、コラーゲン結合ドメイン、B-リピート領域および LPXTG 配列からなっている。Cnm と Cbm のコラーゲン結合ドメインは約 78% の相同性を有している。また、B-リピート領域は、Cnm と Cbm の間でそれぞれ異なるアミノ酸配列の繰り返りで構成されている。健康者の口腔から分離した *S. mutans* 株のうち、Cbm 陽性菌株は Cnm 陽性菌株よりも有意に高い I 型コラーゲンへの結合能を示す¹⁴⁾。これまでに、Cnm も Cbm も存在していない *S. mutans* 株では、コラーゲン結合能を有している菌株は見つかっていない。健康者由来の口腔分離株を用いた大規模な分析から、*S. mutans* 株のうち Cnm 陽性のものは約 10 ~ 20%、Cbm 陽性のものは約 2% であることが分かっている¹⁴⁾。この分布はフィンランドやタイにおいても同様の傾向を示す。Cnm や Cbm は、口腔内では少なく心臓弁組織からは高い頻度で検出される *f* 型や *k* 型の *S. mutans* 株に多く認められる傾向にある¹⁴⁾。特に、Cnm 陽性菌株は *f* 型の *S. mutans* 株に、Cbm 陽性菌株は *k* 型の *S. mutans* 株に局在している。

S. mutans には、分子量約 190kDa の高分子タンパク抗原 (PA) が存在し、スクロース非依存性の菌面への初期付着に関与していることが知られている¹⁵⁾。PA は SpaP, P1 および antigen I/II などの名称でも知られ、コラーゲンやフィブリノーゲンに結合するタンパクであるという報告も存在するが^{16, 17)}、Cnm も Cbm も存在せず PA だけが発現している *S. mutans* 株では明らかなコラーゲン結合能を有するような菌株は確認されていない。PA は細胞壁アンカータンパクの 1 つであり、A 領域、P 領域および LPXTG 配列からなる (図 1 B)。PA を発現していない *S. mutans* 株の頻度はわずか 5% 以下に過ぎず、このような菌株は全て *f* 型と *k* 型の *S. mutans* 株に分類され、いずれもコラーゲン結合タンパク陽性菌株である (図 1 C)¹⁸⁾。特に、*k* 型株のうち約 80% が、コラーゲン結合タンパクを有しているが PA を発現しておらず、多くの *S. mutans* 株とは異なる菌体表層構造を有している。コラーゲン結合タンパク陽性株の中で、PA を発現していない菌株の割合は約 25% を占めている¹³⁾。PA 欠失株では、抗原性の低下により多形核白血球の貪食を受けにくくなることが明らかになっている¹⁹⁾。また、PA と Cnm の両方を発現するタイプの菌株の PA を遺伝子操作により欠失させると、I 型、III 型および IV 型コラーゲンへの結合能は有意に増加す

る¹⁸⁾。さらに、PA 欠失変異株では、親株と比較して血管内皮細胞への付着能および侵入能の有意な増加を認める¹⁸⁾。多数の口腔分離株を用いた分析においても、コラーゲン結合タンパク陽性菌株のうち、PA 陽性菌株よりも PA 陰性菌株において、I 型コラーゲン結合能および血管内皮細胞への付着侵入能が有意に高いことが明らかとなっている¹⁸⁾。これらの研究結果から、PA の存在が Cnm と Cbm のコラーゲン結合能や血管内皮細胞への付着侵入能を抑制している可能性が考えられる。

2. *S. mutans* のフィブリノーゲンへの結合能および凝集能に関する分析

フィブリノーゲンは、ヒトの血漿中に 2 ~ 4mg/ml の濃度で存在し、創傷治癒の際の血液凝固過程において中心的な役割を果たすことが知られている²⁰⁾。黄色ブドウ球菌など一部の細菌においては、フィブリノーゲンへの結合能を保有するものの存在が確認されている²¹⁾。このような細菌は、傷害を受けた心臓弁を修復

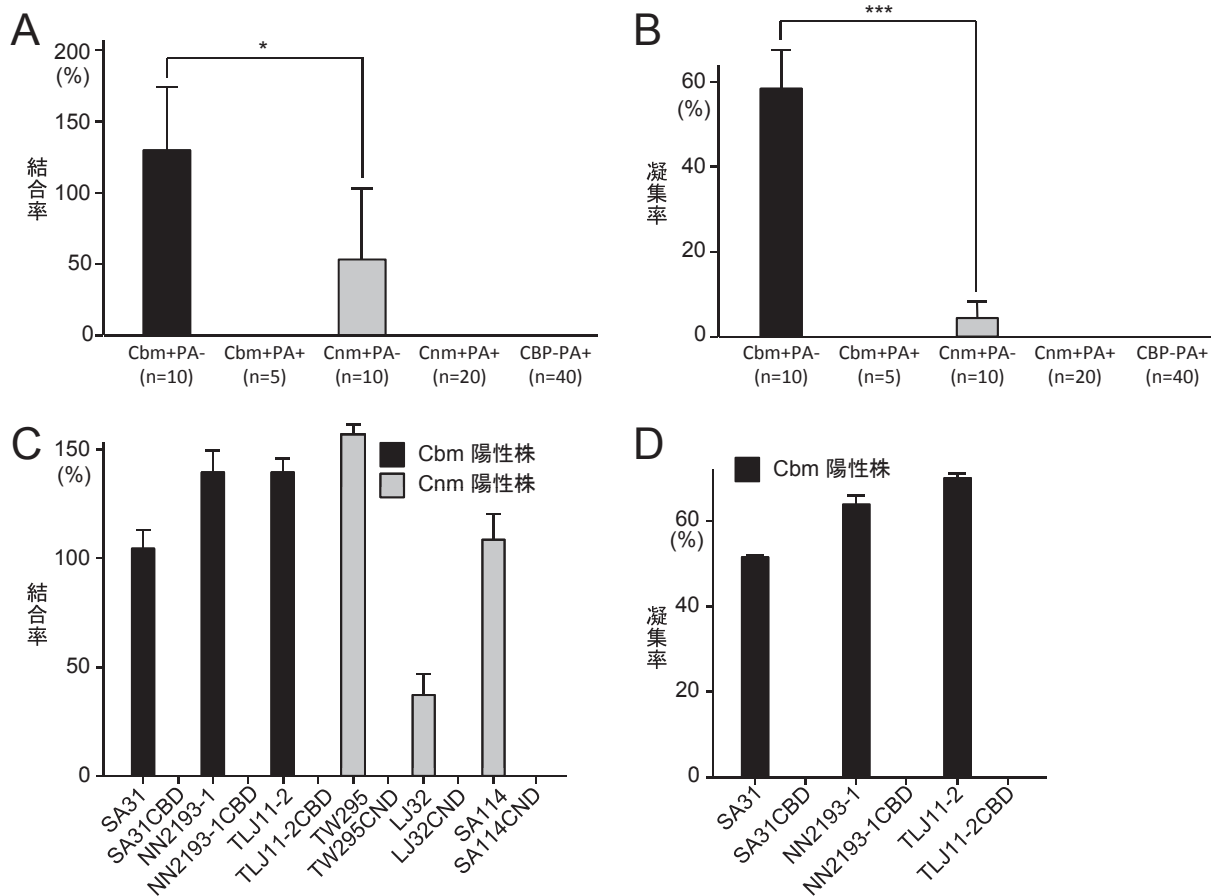


図2 *S. mutans* 株とフィブリノーゲンとの反応

A. *S. mutans* 臨床分離株のフィブリノーゲン結合能 96穴プレートにフィブリノーゲン溶液を添加後、4℃18時間静置し、 2×10^9 集落形成単位 (colony forming unit; CFU) となるように調整した *S. mutans* 株を添加した。3時間後にプレートを洗浄し、プレート底面のフィブリノーゲンに付着した *S. mutans* 株をクリスタルバイオレットで染色した後、プレートリーダーを用いて OD₅₉₅ 値を測定した。それぞれの *S. mutans* 株のフィブリノーゲン結合率は、SA31 株の OD₅₉₅ 値を 100% とした時の割合により求めた。t 検定により統計学的有意差あり (* $P < 0.05$)。

B. *S. mutans* 臨床分離株のフィブリノーゲン凝集能 37℃18時間培養した *S. mutans* 株を OD₆₀₀=0.6 になるように調整後、フィブリノーゲンを 2.5mg/ml となるように添加し、24時間後の OD₆₀₀ 値を測定した。フィブリノーゲン存在下での凝集率は、以下の計算式により求めた。 $\{[(24 \text{ 時間後のフィブリノーゲン非存在下での OD}_{600} \text{ 値}) - (24 \text{ 時間後のフィブリノーゲン存在下での OD}_{600} \text{ 値})] / 0.6 (\text{実験開始時の菌液の OD}_{600} \text{ 値})\} \times 100$ 。t 検定により統計学的有意差あり (** $P < 0.001$)。

C, D. Cbm および Cnm 欠失変異株のフィブリノーゲン結合能 (C) および凝集能 (D) Cbm+/PA-株の *cbm* 遺伝子および Cnm+/PA-株の *cnm* 遺伝子の中央部分にエリスロマイシン耐性遺伝子を挿入することにより、それぞれの遺伝子を不活化した株を作製し、上記 A および B と同様のフィブリノーゲン結合実験および凝集実験に使用した。

するために集積したフィブリノーゲンや、人工弁の上に被覆したフィブリノーゲンに付着し、感染性心内膜炎の進行に深く関わっていると考えられている^{22, 23)}。

これまでに、*S. mutans* 臨床分離株を用いて、フィブリノーゲンとの反応について検討を行った。まず、健康者の口腔から分離した *S. mutans* 株 85 株を Cnm, Cbm および PA の発現の有無により 5 つのグループ (Cbm+/PA-, Cbm+/PA+, Cnm+/PA-, Cnm+/PA+, CBP-/PA+) に分類した。これらの *S. mutans* 株についてフィブリノーゲンへの結合能を検討したところ、Cnm もしくは Cbm を発現している *S. mutans* 株においてのみフィブリノーゲンへの結合能が認められた (図 2 A)。これらの Cnm および Cbm 陽性菌株のうち、フィブリノーゲンへの結合能を示すのは、コラーゲン結合タンパク陽性菌株の中でも PA を発現しない菌株に限られていた。PA を発現しない 2 つのグループ間では、Cbm+/PA- 株において Cnm+/PA- 株と比較して有意に高いフィブリノーゲン結合能を示した。一方で、フィブリノーゲン存在下では Cbm+/PA- 株のみが明らかな菌の凝集能を示すのに対して、Cnm+/PA- 株で凝集能を示したのは、ごくわずかの菌株だけであった (図 2 B)。フィブリノーゲンの結合能と凝集能の間には正の相関が認められることから、フィブリノーゲンへの結合能の高い菌株が凝集能も示す傾向にあることが考えられる。

次に、フィブリノーゲンに対して反応を示した Cbm+/

PA-株および Cnm+/PA-株の Cbm および Cnm をコードする遺伝子中央部に抗生物質耐性遺伝子を挿入し不活化させた菌株を用いて、フィブリノーゲンへの結合能および凝集能を検討したところ、これらの株では結合能および凝集能が完全に失われた (図 2 C, D)。このことから、コラーゲン結合タンパクとして知られている Cnm と Cbm がフィブリノーゲン結合タンパクとしても機能していることが明らかになった。

S. mutans 株のうち、フィブリノーゲンと反応する能力を有するのは、Cbm+/PA- および Cnm+/PA- という特殊な菌体表層タンパクの発現パターンを示す菌株であることから、これらのリコンビナントタンパクを抽出し、分析に用いることにした。リコンビナントタンパクの作製は、Cbm, Cnm および PA をコードする遺伝子をタンパク発現用ベクターである pET-42a (+) にライゲーションすることによりプラスミドを作製後、このプラスミドをタンパク発現用大腸菌である BL21 (DE3) 株に形質転換した後、GST 融合タンパク質精製用アフィニティーゲルを用いてリコンビナントタンパクを精製した。リコンビナント Cbm は Cbm 陽性株である SA31 株 (血清型 *k*) の *cbm* 遺伝子から、リコンビナント Cnm は Cnm 陽性株である TW295 株 (血清型 *k*) の *cnm* 遺伝子から作製した。また、リコンビナント PA は PA 陽性株である MT8148 株 (血清型 *c*) の PA をコードする遺伝子配列をもとに作製した。

これらのリコンビナントタンパクのフィブリノーゲ

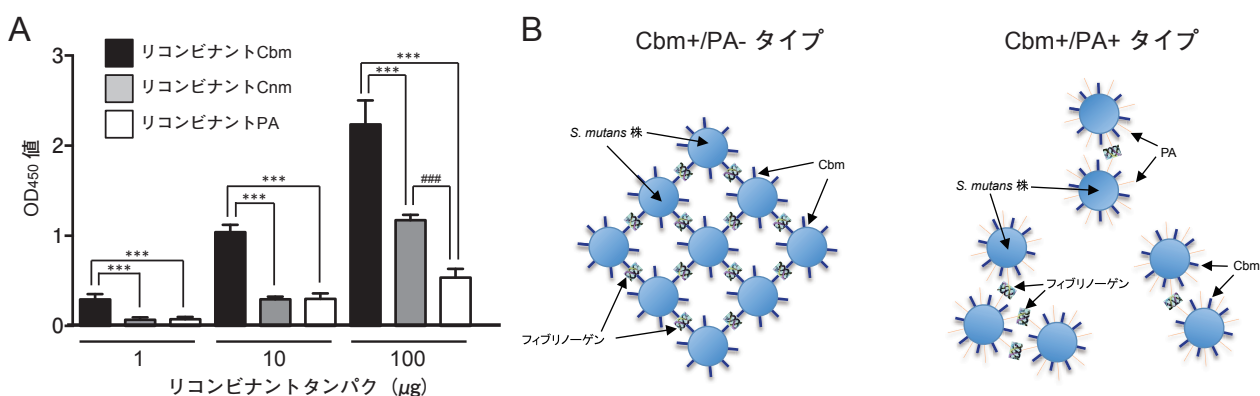


図3 菌体表層タンパクによるフィブリノーゲンへの結合

A. リコンビナントタンパクのフィブリノーゲン結合能 Cbm, Cnm および PA をコードする遺伝子を、タンパク発現用ベクターである pET-42a(+) にライゲーションすることによりプラスミドを作製した。このプラスミドをタンパク発現用大腸菌 BL21 (DE3) 株に形質転換した後、GST 融合タンパク質精製用アフィニティーゲルを用いてリコンビナントタンパクを精製した。t 検定により統計学的有意差あり (***) $P < 0.001$, (###) $P < 0.001$ 。

B. Cbm+/PA-タイプおよび Cbm+/PA+ タイプの *S. mutans* 株による推定されるフィブリノーゲンへの結合 Cbm+/PA-タイプの *S. mutans* 株はフィブリノーゲンに強固に結合し、病原部での疣贅形成に関与していると考えられる。

ンへの結合能について検討したところ、全てのリコンビナントタンパクがフィブリノーゲンへの結合能を示した (図 3A)。このうち、リコンビナント Cbm が最も高い値を示し、リコンビナント PA が最も低い値を示した。これらの結果から、フィブリノーゲンに結合するタンパクのうち、Cbm しか発現していない Cbm+/PA- タイプの菌株では、Cbm による強固なフィブリノーゲン結合能が生じる可能性が示唆された (図 3B)。一方で、Cbm+/PA+ タイプの菌株では、Cbm と PA の両方の菌体表層タンパクによるフィブリノーゲンへの結合が生じると考えられる。このタイプの菌株では、分子量約 120kDa の Cbm よりも分子量の大きい PA (約 190kDa) の方がフィブリノーゲンへの有意な結合が生じ、PA の弱い結合が主体になっていると考えられる。PA 陽性菌株による弱いフィブリノーゲン結合能は、フィブリノーゲン結合実験では検出されず、病原性も極めて弱いと考えられる。Cbm と Cnm の間の結合能および凝集能の強さの差は、コラーゲン結合ドメインもしくは B-リピート領域の配列の差異によるものだと考えられるが、それぞれの機能を明らかにするためには、今後のそれぞれのタンパク構造に関する研究が必要であると思われる。

3. *S. mutans* の血小板凝集能に関する分析

先天性心疾患や人工弁置換術により血流に乱れが生じると、心内膜に傷害が起こり血小板の凝集反応へとつながる¹⁾。この状態で菌血症が生じた場合には、傷害部に細菌が付着し、細菌と血小板などからなる疣贅を形成することがあると考えられる¹⁾。特に、細菌が血小板凝集能を有する場合には、疣贅が拡大する可能性があることから、菌の血小板凝集能を分析することは感染性心内膜炎の病原性を考える上で非常に重要である。一方、フィブリノーゲンは、血小板上の GPIIb/IIIa (α IIb β 3 インテグリン) と呼ばれる糖タンパクに結合して血小板どうしをつなぎ、血小板凝集を誘導し創傷部位の止血に関与することが知られている²⁴⁾。そこで、ヒトの全血とコラーゲンをを用いた血小板凝集実験²⁵⁾を用いて、フィブリノーゲンを添加することによりフィブリノーゲンに高い反応性を示す Cbm+/PA- タイプの *S. mutans* 株の血小板凝集能の分析を検討することにした。

PA を発現しないコラーゲン結合タンパク陽性菌株では、表層電荷が負に帯電しているため、同じく負電荷

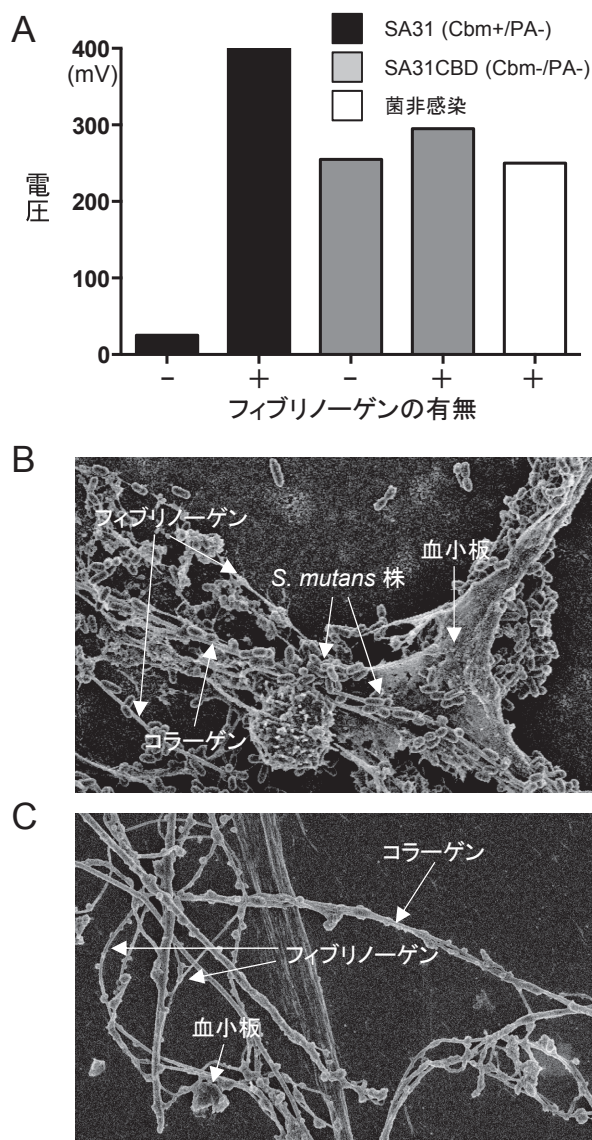


図 4 フィブリノーゲン存在下での *S. mutans* 株の血小板凝集能

A. フィブリノーゲンの有無における血小板凝集能の評価 1×10^7 CFU/ml に調整した *S. mutans* 株にフィブリノーゲンを添加する群と非添加群を設け、ヒト末梢血を血小板凝集計内で混合し 5 分反応させた後、I 型コラーゲンを添加して、電圧の変化を記録することにより血小板凝集能を求めた。得られた電圧の値が高いほど、高い血小板凝集能を有することを示している。B, C. *S. mutans* 株感染時の血小板凝集能 (走査型電子顕微鏡像) 1×10^{10} CFU に調整した *S. mutans* 株をフィブリノーゲンおよび血小板と反応させ 2% グルタルアルデヒドで固定後、走査型電子顕微鏡にて観察を行った。SA31 株感染群においては、多数の菌株がコラーゲン、フィブリノーゲンおよび血小板に付着し、凝集塊を形成しているのに対し (B), SA31CBD 株感染群では菌株の付着や凝集塊は認められない (C)。

を帯び傷害部位において露出したコラーゲンに結合する能力を有する血小板と互いに抑制的に作用する²⁶⁾。そのため、フィブリノーゲン非存在下では、Cbm+/PA-タイプの *S. mutans* 株である SA31 株がコラーゲンに結合してしまうと、血小板はほとんど凝集能を示すことができない (図 4A)。一方で、フィブリノーゲン存在下では、フィブリノーゲンを介在させた「Cbm+/PA-

タイプの菌：フィブリノーゲン：血小板」という結合が多数生じることになり、結果として高い血小板凝集反応が生じる。このように、Cbm+/PA-タイプの菌が介在すると、止血や創傷治癒が阻害されるため、より多くのフィブリノーゲンや血小板が消費され、結果的に疣贅の肥大化が生じる可能性があると考えられる。一方で、SA31 株の Cbm をコードする遺伝子に抗生物質

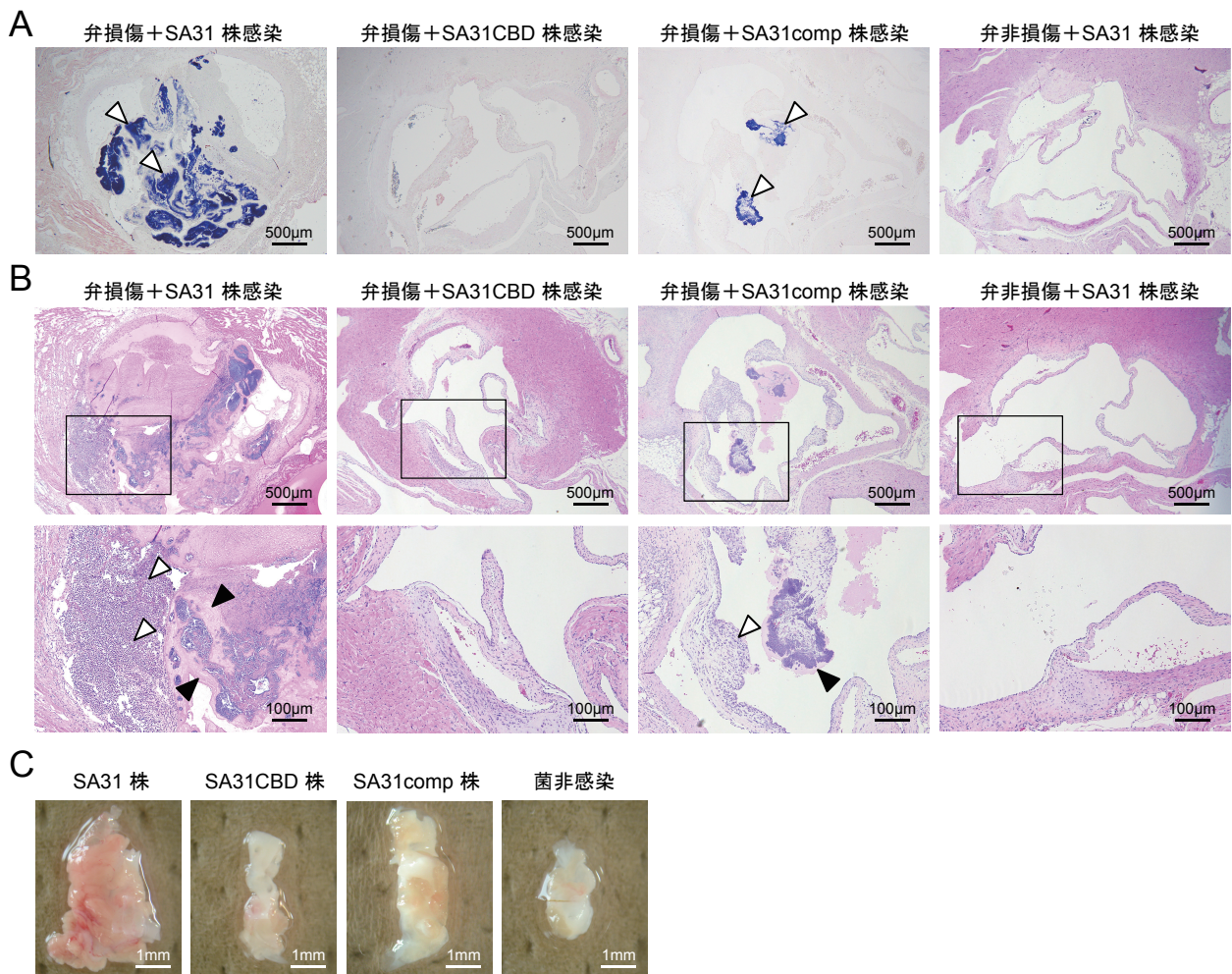


図5 ラット感染性心内膜炎モデルを用いた病原性の評価

A. ラット心臓弁検体のグラム染色像 Sprague-Dawley 系ラット (体重約 300g) の頸部を切開し右総頸動脈から留置針外筒をカニューレション後、ガイドワイヤーを左室に挿入し弁傷害を惹起させた。左総頸静脈からは 1×10^8 CFU の *S. mutans* 株を感染させた。処置 1 週間後に心臓を摘出し、大動脈弁相当部で横断してグラム染色を行った。矢頭は菌塊を示す。SA31 株および SA31comp 株を感染させた心臓弁では菌塊を認めるのに対し、SA31CBD 株を感染させても菌塊の形成は認められない。また、弁傷害を惹起させていないラットでは、SA31 株を感染させても菌塊形成は認められない。

B. ラット心臓弁のヘマトキシリン・エオジン染色像 グラム染色で用いたのと同じ組織切片を用いて、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。下段の写真は、上段の四角部分の拡大像を示す。矢頭 (白色) は炎症細胞浸潤を示す。矢頭 (黒色) はフィブリン様沈着物を示す。SA31 株および SA31comp 株を感染させた心臓弁では炎症細胞浸潤およびフィブリン様沈着物を認めるのに対し、SA31CBD 株を感染させてもこれらの所見は認められない。また、弁傷害を惹起させていないラットでは、SA31 株を感染させても炎症細胞浸潤およびフィブリン様沈着物は認められない。

C. 摘出したラット大動脈弁 左心室と心筋組織に接するひだ状で白色を呈する疣贅を含む大動脈弁を一塊で摘出し比較した。SA31 株および SA31comp 株感染群では、SA31CBD 株感染群および菌非感染群と比較して明らかな弁肥大を認める。

耐性遺伝子を挿入することで不活化させた SA31CBD 株では、コラーゲンおよびフィブリノーゲンへの結合能が失われるため、SA31CBD 株の有無にかかわらず血小板凝集反応は阻害されない。電子顕微鏡像からも、フィブリノーゲン存在下では、SA31CBD 株と比較して SA31 株において明らかな血小板凝集反応が確認された (図 4 B, C)。

これまでに、コラーゲン結合タンパクを発現せず PA のみを発現するような口腔内に広く存在するタイプの *S. mutans* 株において、蛍光顕微鏡像から血小板の凝集反応が確認されている²⁷⁾。また、このタイプの *S. mutans* 株の PA を遺伝子操作により欠失させた菌株では、凝集反応の消失が認められている。その研究では、リコンビナント PA または PA 抗体を添加すると、PA 陽性菌株による凝集能が抑制されることから、PA が直接的あるいは間接的に血小板に結合することにより血小板の凝集が引き起こされると考察されている。この凝集が PA による弱いフィブリノーゲン結合能により生じるものなのかどうかは明らかになっていないが、口腔内に広く存在する PA 陽性の *S. mutans* 株においても、特定の条件下においては血小板凝集活性が存在し得とも考えられる。

4. 感染性心内膜炎モデル動物を用いた *S. mutans* の病原性の評価

感染性心内膜炎の病原性を評価する動物モデルとして、ラット心臓弁傷害モデルが一般的に用いられている²⁸⁾。このモデルでは、通常心臓弁に人工的に傷害を与えて供試菌を感染させ、1 週間後に屠殺を行い摘出した心臓の組織学的評価を行う。しかし、SA31 株感染群では感染 6 日目に全てのラットが死亡した。そこで、6 日目に摘出した心臓を大動脈弁相当部で横断し、組織切片を作製しグラム染色を行うと、SA31 株感染群では多数の菌の心臓弁への付着が認められた (図 5 A)。一方で、SA31CBD 株感染群において、1 週間後に屠殺して評価した際には心臓弁への菌の付着は全く認められなかった。さらに、SA31CBD 株に Cbm をコードする遺伝子を再導入して Cbm を発現させた SA31comp 株感染群において、1 週間後に屠殺して評価した際には菌の付着が認められた。興味深いことに、心臓弁の傷害を生じさせないラットでは、SA31 株を感染させ 1 週間後に屠殺して評価した際に、心臓弁への菌の付着を全く認めなかった。また、それぞれの菌株を感染させた

心臓の組織切片にヘマトキシリン・エオジン染色を行ったところ、SA31 株感染群および SA31comp 株感染群において、炎症細胞の浸潤とフィブリン様物質の沈着が著しく亢進していることが明らかになった (図 5 B)。さらに、左心室と心筋組織に接する白色を呈する疣贅とともに大動脈弁を摘出し重量を測定したところ、SA31 株感染群および SA31comp 株感染群において、SA31CBD 株感染群や菌非感染群と比較して有意に高く、Cbm+/PA-株の感染により病変部組織が肥大することが示された (図 5 C)。

おわりに

主要なう蝕病原性細菌である *S. mutans* は感染性心内膜炎の起炎菌として古くから知られてるにもかかわらず、その詳細な病原メカニズムは長きにわたり明らかにされてこなかった。近年になり、健康者と心疾患患者では口腔内に存在する *S. mutans* 株の血清型分布が異なることが示された。また、そのような *S. mutans* 株では、コラーゲンやフィブリノーゲンへの結合能を利用して、血管内皮細胞への付着侵入能や血小板凝集能を有していることが明らかになってきた。今後は、高病原性菌株の菌体表層タンパクのさらなる同定を試みるとともに、病態に関わるような菌と生体とのさらなる相互作用についても明らかにしたいと考えている。また、感染性心内膜炎において高い病原性を発揮するタイプの *S. mutans* 株は、感染性心内膜炎の主要な合併症として知られる脳出血にも関わっていることが明らかになってきている^{26, 29, 30)}。今後の研究により、*S. mutans* による様々な全身疾患との関連性が明らかになれば、それらの疾患を予防する上での歯科医師が果たす役割がより重要になってくるのではないかと考えている。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、これまで本研究に対して御協力をいただきました大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (小児歯科学教室) の教室員の皆様に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 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.
- 2) Karchmer, A. W. (2001): Infective endocarditis. In Heart disease 6th edition, Eds, E Braunwald, DP Zipes, P Libby. Philadelphia: W. B. Saunders, pp 1723-1750.
 - 3) Moreillon, P. and Que, Y. A. (2004): Infective endocarditis. *Lancet*, 363, 139-149.
 - 4) Nakatani, S., Mitsutake, K., Hozumi, T., Yoshikawa, J., Akiyama, M., Yoshida, K., Ishizuka, N., Nakamura, K., Taniguchi, Y., Yoshioka, K., Kawazoe, K., Akaishi, M., Niwa, K., Nakazawa, M., Kitamura, S. and Miyatake, K. (2003): Committee on Guideline for Prevention and Management of Infective Endocarditis, Japanese Circulation Society. Current characteristics of infective endocarditis in Japan: an analysis of 848 cases in 2000 and 2001. *Circ J*, 67, 901-905.
 - 5) Niwa, K., Nakazawa, M., Tateno, S., Yoshinaga, M. and Terai, M. (2005): Infective endocarditis in congenital heart disease: Japanese national collaboration study. *Heart*, 91, 795-800.
 - 6) Hamada, S. and Slade, H. D. (1980): Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev*, 44, 331-384.
 - 7) Nakano, K., Nomura, R., Nakagawa, I., Hamada, S. and Ooshima, T. (2004): Demonstration of *Streptococcus mutans* with a cell wall polysaccharide specific to a new serotype, *k*, in the human oral cavity. *J Clin Microbiol*, 42, 198-202.
 - 8) Nomura, R., Nakano, K., Taniguchi, N., Lapidattanakul, J., Nemoto, H., Grönroos, L., Alaluusua, S. and Ooshima, T. (2009): Molecular and clinical analyses of the gene encoding the collagen-binding adhesin of *Streptococcus mutans*. *J Med Microbiol*, 58, 469-475.
 - 9) Lapidattanakul, J., Nakano, K., Nomura, R., Nemoto, H., Kojima, A., Senawongse, P., Srisatjaluk, R. and Ooshima, T. (2009): Detection of serotype *k* *Streptococcus mutans* in Thai subjects. *Oral Microbiol Immunol*, 24, 431-433.
 - 10) Nakano, K., Nemoto, H., Nomura, R., Homma, H., Yoshioka, H., Shudo, Y., Hata, H., Toda, K., Taniguchi, K., Amano, A. and Ooshima, T. (2007): Serotype distribution of *Streptococcus mutans*, a pathogen of dental caries, in cardiovascular specimens from Japanese patients. *J Med Microbiol*, 56, 551-556.
 - 11) Nakano, K., Nomura, R., Nemoto, H., Mukai, T., Yoshioka, H., Shudo, Y., Hata, H., Toda, K., Taniguchi, K., Amano, A. and Ooshima, T. (2007): Detection of novel serotype *k* *Streptococcus mutans* in infective endocarditis patients. *J Med Microbiol*, 56, 1413-1415.
 - 12) Sato, Y., Okamoto, K., Kagami, A., Yamamoto, Y., Igarashi, T. and Kizaki, H. (2004): *Streptococcus mutans* strains harboring collagen-binding adhesin. *J Dent Res*, 83, 534-539.
 - 13) Nomura, R., Naka, S., Nemoto, H., Otsugu, M., Nakamura, S., Ooshima, T. and Nakano, K. (2013): Potential high virulence for infective endocarditis in *Streptococcus mutans* strains with collagen-binding proteins but lacking PA expression. *Arch Oral Biol*, 58, 1627-1634.
 - 14) Nomura, R., Nakano, K., Naka, S., Nemoto, H., Masuda, K., Lapidattanakul, 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.
 - 15) Okahashi, N., Sasakawa, C., Yoshikawa, M., Hamada, S. and Koga, T. (1989): Molecular characterization of a surface protein antigen gene serotype *c* *Streptococcus mutans* implicated in dental caries. *Mol Microbiol*, 3, 673-678.
 - 16) Love, R. M., McMillan, M. D. and Jenkinson, H. F. (1997): Invasion of dentinal tubules by oral streptococci is associated with collagen recognition mediated by the antigen I/II family of polypeptides. *Infect Immun*, 65, 5157-5164.
 - 17) Beg, A. M., Jones, M. N., Miller-Torbert, T. and Holt, R. G. (2002): Binding of *Streptococcus mutans* to extracellular matrix molecules and fibrinogen. *Biochem Biophys Res Commun*, 298, 75-79.
 - 18) Nakano, K., Nomura, R., Nemoto, H., Lapidattanakul, J., Taniguchi, N., Grönroos, L., Alaluusua, S. and Ooshima, T. (2008): Protein antigen in serotype *k* *Streptococcus mutans* clinical isolates. *J Dent Res*, 87, 964-968.
 - 19) Nakano, K., Tsuji, M., Nishimura, K., Nomura, R. and Ooshima, T. (2006): Contribution of cell surface protein antigen Pac of *Streptococcus mutans* to bacteremia. *Microbes Infect*, 8, 114-121.
 - 20) Savage, B., Shattil, S. J. and Ruggeri, Z. M. (1992): Modulation of platelet function through adhesion receptors. A dual role for glycoprotein IIb-IIIa (integrin α IIb β 3) mediated by fibrinogen and glycoprotein Ib-von Willebrand factor. *J Biol Chem*, 267, 11300-11306.
 - 21) Miajlovic, H., Loughman, A., Brennan, M., Cox, D. and Foster, T. J. (2007): Both complement- and fibrinogen-dependent mechanisms contribute to platelet aggregation mediated by *Staphylococcus aureus* clumping factor B. *Infect Immun*, 75, 3335-3343.
 - 22) Nethercott, C., Mabbett, A. N., Totsika, M., Peters, P., Ortiz, J. C., Nimmo, G. R., Coombs, G. W., Walker, M. J. and Schembri, M. A. (2013): Molecular characterization of endocarditis-associated *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 51, 2131-2138.
 - 23) Que, Y. A., Haefliger, J. A., Piroth, L., François, P., Widmer, E., Entenza, J. M., Sinha, B., Herrmann, M., Francioli, P., Vaudaux, P. and Moreillon, P. (2005): Fibrinogen and fibronectin binding cooperate for valve

- infection and invasion in *Staphylococcus aureus* experimental endocarditis. *J Exp Med*, 201, 1627–1635.
- 24) Ruggeri, Z. M. (2003): Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. *J Thromb Haemost*, 1, 1335–1342.
- 25) Nakano, K., Fujita, K., Nishimura, K., Nomura, R. and Ooshima, T. (2005): Contribution of biofilm regulatory protein A of *Streptococcus mutans*, to systemic virulence. *Microbes Infect*, 7, 1246–1255.
- 26) Nakano, K., Hokamura, K., Taniguchi, N., Wada, K., Kudo, C., Nomura, R., Kojima, A., Naka, S., Muranaka, Y., Thura, M., Nakajima, A., Masuda, K., Speziale, P., Shimada, N., Amano, A., Kamisaki, Y., Tanaka, T., Umemura, K. and Ooshima, T. (2011): The collagen-binding protein of *Streptococcus mutans* is involved in haemorrhagic stroke. *Nat Commun*, 2, 485.
- 27) Matsumoto-Nakano, M., Tsuji, M., Inagaki, S., Fujita, K., Nagayama, K., Nomura, R. and Ooshima, T. (2009): Contribution of cell surface protein antigen *c* of *Streptococcus mutans* to platelet aggregation. *Oral Microbiol Immunol*, 24, 427–430.
- 28) Jung, C. J., Zheng, Q. H., Shieh, Y. H., Lin, C. S. and Chia, J. S. (2009): *Streptococcus mutans* autolysin AtlA is a fibronectin-binding protein and contributes to bacterial survival in the bloodstream and virulence for infective endocarditis. *Mol Microbiol*, 74, 888–902.
- 29) Miyatani, F., Kuriyama, N., Watanabe, I., Nomura, R., Nakano, K., Matsui, D., Ozaki, E., Koyama, T., Nishigaki, M., Yamamoto, T., Mizuno, T., Tamura, A., Akazawa, K., Takada, A., Takeda, K., Yamada, K., Nakagawa, M., Ihara, M., Kanamura, N., Friedland, R. P. and Watanabe, Y. (2015): Relationship between Cnm-positive *Streptococcus mutans* and cerebral microbleeds in humans. *Oral Dis*, 21, 886–893.
- 30) Tonomura, S., Ihara, M., Kawano, T., Tanaka, T., Okuno, Y., Saito, S., Friedland, R. P., Kuriyama, N., Nomura, R., Watanabe, Y., Nakano, K., Toyoda, K. and Nagatsuka, K. (2016): Intracerebral hemorrhage and deep microbleeds associated with *cnm*-positive *Streptococcus mutans*; a hospital cohort study. *Sci Rep*, 6, 20074.