The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Streptococcus gordoniiのFusobacterium nucleatumとの栄養共生におけるアルギニン・オルニチンアンチポーターArcDの機能解析
Author(s)	坂中, 哲人
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/61672
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　坂　中　哲　人　）	
論文題名	*Streptococcus gordonii*の*Fusobacterium nucleatum*との栄養共生における アルギニン・オルニチンアンチポーターArcDの機能解析

論文内容の要旨

口腔常在菌である*Streptococcus gordonii*は，栄養素を供与することで歯周病菌の定着を促進する栄養共生と呼ばれる現象によって病原性バイオフィルムの形成に関与することが明らかとなってきた。同菌はアルギニンを代謝して最終的にアンモニアとATPを産生するアルギニンデイミナーゼ経路（ADS）を有している。ADSの一部を構成し，アルギニン・オルニチンアンチポーターであるとされるArcDについては，代謝物の輸送に関わることから栄養共生に関与する可能性がある。しかし，これまで*S. gordonii*のArcDを対象とした研究は行われていない。そこで本研究では*S. gordonii arcD*遺伝子欠損株（Δ*arcD*）および相補株を作製し，ArcDの機能解析を行うとともに，歯周病原性バイオフィルム内での栄養共生におけるArcDの果たす役割について検討を加えた。

まず放射線標識したアルギニンの取り込み能を*S. gordonii*各菌株間で比較することにより，ArcDの高いアルギニン取り込み能が示された。またΔ*arcD*は野生株と比べ，アルギニンの有無に関わらず増殖不良を示し，とりわけ低濃度アルギニン環境中で顕著な発育不全を呈した。次に高速液体クロマトグラフィーを用いて*S. gordonii*各菌株の培養上清中の代謝物濃度を測定したところ，Δ*arcD*のオルニチン排出量が有意に低下していることが示された。さらに野生株とΔ*arcD*の菌体内代謝物プロファイルおよび遺伝子発現解析の結果，Δ*arcD*ではオルニチン濃度が顕著に増加することでアルギニン代謝に攪乱が生じ，アルギニン生合成が抑制されるとともにADSが機能不全に陥ることを見出した。最後にΔ*arcD*のアンモニア産生量が有意に低下し，それにより酸性環境中での増殖が抑制されることを確認した。

次に2菌種による実験的バイオフィルム形成モデルを用いて病原性バイオフィルム形成におけるArcDの役割を評価した。まず*S. gordonii*各菌株の歯周病関連菌*Fusobacterium nucleatum*との混合バイオフィルム形成能を評価したところ，Δ*arcD*バイオフィルム上の*F. nucleatum*菌量の有意な減少を認めた。一方，オルニチン存在下では，それが濃度依存的に回復したことから，ArcDを介したオルニチンの排出が*F. nucleatum*との栄養共生に関与していることが示唆された。さらに，オルニチンが*F. nucleatum*単一バイオフィルム形成量を増加させることを確認した。また歯周病菌*Porphyromonas gingivalis*には同様の変化を認めなかったことから，ArcDを介したオルニチンによる栄養共生は菌種特異的なものであることが示唆された。

本研究により，ArcDが*S. gordonii*のアルギニン代謝の恒常性維持に重要であるのみならず，歯周病関連菌*F. nucleatum*とのオルニチンを介した栄養共生にも利用され，歯周病原性バイオフィルムの高病原化に寄与している可能性が示された。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（坂　中　哲　人）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　大阪大学　教　授	天 野 敦 雄
	副 査　大阪大学　教　授	野 田 健 司
	副 査　大阪大学　准教授	野 村 良 太
	副 査　大阪大学　講　師	伊 藤 祥 作

論文審査の結果の要旨

歯周病原性バイオフィルムの成熟における口腔レンサ球菌を介した栄養共生の役割が注目される一方，アルギニン関連代謝物の細菌間での栄養共生への関与については不明な部分が多い。本研究では歯周病原性バイオフィルムの成熟における口腔レンサ球菌と歯周病関連菌によるアルギニン関連代謝物を介した栄養共生について検討を加えた。

Streptococcus gordonii のアルギニン・オルニチンアンチポーターArcD 欠損株を作製し，ArcD のアルギニンの取り込み，およびオルニチンの排出への関与が *S. gordonii* のアルギニン代謝の恒常性維持に重要であることを示した。さらに実験的バイオフィルム形成モデルを用いて *Fusobacterium nucleatum* との混合バイオフィルム形成能を評価したところ，ArcD 欠損株で *F. nucleatum* 菌量の有意な減少を認め，ArcD を介したオルニチンの排出が *F. nucleatum* との栄養共生に関与していることが示された。

これらの知見は歯周病原性バイオフィルムの成熟において細菌間での栄養共生が重要な役割を果たすことを示唆するものであり，博士（歯学）の学位に十分値するものと認める。